

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

Patologia. — *L'infezione da Anchilostoma per la via cutanea.*
Nota di GINO PIERI (1), presentata dal Socio B. GRASSI.

Si era fino a qualche anno fa ritenuto che l'*Anchilostoma*, il noto verme parassita cui si deve una grave forma di anemia professionale (minatori, fornai, contadini ecc.) si trasmettesse per ingoiamento delle larve mature, come era stato supposto da Leuckart, Grassi, Perroncito e dimostrato sperimentalmente da Leichtenstern nel 1886.

Nel 1897 il dott. Looss espresse l'ipotesi che questa infezione potesse verificarsi anche per la penetrazione attiva delle larve attraverso la pelle; ometto per brevità la relazione dei fatti che lo determinarono in questa opinione (2).

Io, per consiglio del Prof. Grassi e sotto la sua direzione, mi occupai fin dal 1901 della importante questione, con studi e ricerche che in parte ho già pubblicato, in parte riferirò nella presente nota.

Perchè la questione sia posta chiaramente e svolta esaurientemente riassumerò succintamente le esperienze di Looss e di coloro che ne confermarono le conclusioni; esporrò quindi brevemente la serie delle mie ricerche e i risultati che ne scaturiscono.

Nel settembre 1902 Looss depose sulla pelle dell'avambraccio di un giovane egiziano due gocce di acqua molto ricca di larve di *Anchilostoma*; dopo 71 giorni comparvero le uova del parassita nelle feci; l'infezione non fu abbondante: dapprima si avevano 2 uova per ogni preparato di feci diluite; dopo altri 50 giorni il numero era salito a 12.

Nello stesso anno ad un cane di tre mesi di età, Looss applicò sulla pelle per una estensione di circa 20 cm² uno strato dello spessore di circa 3 mm. di feci in cui erano state coltivate le larve di *Dochmius trigonocephalus* (l'*Anchilostoma* del cane). Al decimo giorno dalla esperienza il cane morì. Nelle macchie emorragiche dell'intestino si trovavano 3-5 vermi in ognuna e circa altrettanti fuori dell'emorragia. Esegui su un altro canino l'esperienza; nella notte dal 9° al 10° giorno questo morì: i *Dochmius* rinvenuti nell'intestino erano in notevole quantità (Looss non ne precisa il numero) (3).

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Anatomia Comparata diretto dal prof. B. Grassi.

(2) Centralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde und Infektionskrankheiten: XXIV, pag. 483.

(3) Centralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, XXXIII, n° 5: A. Looss, *Weiteres über die Einwanderung der Ankylostomen von der Haut aus.*

Nel Congresso internazionale di Zoologia a Berna (14-16 agosto 1904) Looss riferì sulla via che terrebbero le larve nella loro emigrazione dalla pelle all'intestino. Cinque cani furono da lui sacrificati alla distanza rispettivamente di 2, 4, 6, 20, 72 ore dall'infezione cutanea. Secondo quanto ha constatato il Looss nel cane, le larve penetrano nei follicoli dei peli, da questi nel sottocutaneo donde per le vene e i linfatici giungono al cuore destro e per le arterie polmonali agli alveoli; dagli alveoli risalgono nei bronchi e nella trachea donde, attraverso il laringe, arrivano all'esofago e di qui all'intestino. A conferma di queste osservazioni io riferisco brevemente le esperienze fatte da me in proposito sull'uomo. In seguito alla deposizione di larve di *Anchylostoma duodenale* sul mio avambraccio, si svilupparono nella pelle in corrispondenza ai follicoli piliferi alcune papule una delle quali mi feci escidere un'ora e mezza dopo l'infezione: all'esame microscopico trovai alcune larve ancora fra il pelo e la guaina, altre erano giunte al follicolo e ne avevano dissociato e distrutto l'epitelio, altre infine attraverso le pareti epiteliali del follicolo si spingevano sul sottocutaneo circostante; un'altra papula escissa due giorni dopo l'infezione presentava iperemia e infiltrazione del sottocutaneo, ma nessuna larva. Un altro stadio potei constatare per somma cortesia del Prof. R. Bastianelli che mi permise di deporre alcune larve di *Anchilostoma* sulla pelle del piede di una inferma che doveva subire l'amputazione per tubercolosi del tarso vastamente suppurata; 10 ore dopo l'inferma fu operata, la pelle fu subito resecata e all'esame microscopico io constatai qualche larva in pieno connettivo sottocutaneo, nessuna più nei follicoli piliferi.

Nel Congresso di Berna il Looss riferì anche una esperienza eseguita su sè stesso: nel marzo 1904 depose sulla pelle del suo avambraccio alcune centinaia di larve di *Anchilostoma* e di *Anguillula*: al 64° giorno dall'esperienza trovò per la prima volta alcune larve di *Anguillula* e un uovo di *Anchilostoma* (1).

Il Prof. Schaudinn eseguì due esperienze con larve di *Anchilostoma* umano su scimmie della specie *Inuus sinicus*. Il 28 maggio 1904 depose 6 gocce di acqua contenente larve sulla pelle del dorso di una di esse. Il 10 giugno (13° giorno dall'esperienza) l'animale morì. All'autopsia si trovarono 36 *Anchilostomi* sviluppati e tre larve.

Un altro *Inuus* fu infettato collo stesso sistema l'11 giugno, e poi di nuovo il 29 e 30 giugno; 6 ore dopo l'ultima infezione fu ucciso. Nell'intestino si trovarono 2 vermi non perfettamente sviluppati e nel cieco si riscontrarono 13 vermi morti, anche essi non completamente sviluppati (2).

(1) Bulletin des VI Internationalen Zoologen Kongresses, n.º 5 (17 aug. 1904): A. Looss, *Die Wanderung der Ankylostomum-Strongyloides Larven von der Haut nach dem Darm.*

(2) Deutsche Medizinische Wochenschrift, XXX, n.º 37: F. Schaudinn, *Ueber die Einwanderung der Ankylostomum-larven von der Haut aus.*

Il Dott. Lambinet provò ad iniettare nella cavità addominale di un cane di 6 mesi larve di *Dochmius* in una soluzione molto diluita di Phenosalyl; dopo 12 giorni il cane morì, nell'intestino si trovavano parecchie centinaia di *Dochmius* della lunghezza di 8-9 mm. In un altro esperimento il numero dei *Dochmius* trovati nell'intestino fu molto minore ed essi non si trovavano tutti nello stesso stadio di sviluppo (1).

Calmette e Breton nel marzo 1905 inocularono ipodermicamente ad un cane di 15 giorni nella regione interseapolare un numero non precisato di larve di *Dochmius*; al 28° giorno comparvero le uova nelle feci; in un altro cane di 24 giorni, cui le larve furono date per bocca, le uova comparvero fino dal 16° giorno. Gli autori tentarono anche di infettare un cane di 15 giorni iniettando larve di *Anchilostoma* umano nella regione interseapolare; dopo 18 giorni comparvero le uova nelle feci; il cane fu ucciso e nell'intestino si trovarono due *Anchilostomi* adulti; i tentativi di infettare cani collo stesso materiale per via orale o per iniezione nella camera anteriore dell'occhio fallirono (2).

Liofmann sperimentò su 6 cani. Il primo, cui erano state deposte sulla pelle del dorso 500 larve, al 16° giorno morì e si trovarono nell'intestino quasi altrettanti parassiti adulti. Nel secondo, che era un po' più avanzato in età, le uova comparvero al 25° giorno; nell'intestino si trovarono circa 50 *Anchilostomi* (le larve deposte erano state circa 1000). Nel terzo cane, cui erano state inoculate larve nella cavità addominale, dopo 16 giorni comparvero le uova nelle feci. Negli altri 3 cani infettati per iniezione si ebbe la morte a un numero di giorni diverso dopo l'infezione e il numero dei parassiti era quasi uguale a quello delle larve. In un cane cui furono somministrate per bocca circa 1000 larve si trovarono circa 50 parassiti nell'intestino (3).

Oltre queste esperienze con risultato positivo rispetto al verificarsi dell'infezione per la via cutanea, trovo risultato negativo nelle ricerche eseguite sull'uomo da Cosimo (il Liefmann che le cita non riporta le indicazioni bibliografiche onde mi è stato impossibile consultarne la relazione) e in una esperienza tentata sopra di sè da un giovane medico, riferita da Tenholt.

Passo ora a riferire le esperienze compiute da me.

Il giorno 4 dicembre 1901 tentai di determinare l'infezione per via cutanea in me, nel prof. Grassi e nel dott. Noè che molto gentilmente si prestarono all'esperimento; il numero delle larve deposte sulla pelle fu di varie migliaia per ognuno di noi. Il 13 febbraio 1902 esaminando al microscopio le mie feci riscontrai in esse qualche uovo del parassita.

(1) Ibid., XXX, n° 50: Lambinet, *Ueber die Durchdringung der Larven des Ankylostomum duodenale durch die Haut.*

(2) Bulletin de l'Académie de Médecine (21 Mars 1905); A. Calmette e M. Bréton, *Note sur l'infection ankylostomiasique expérimentale chez les chiens.*

(3) Zeitschrift für Medicinalbeamte (giugno 1905): Liefmann, *Beitrag zum studium der Ankylostomiasis.*

Attribuì la mia lieve infezione (il numero degli Anchilostomi da me ospitati e di cui mi liberai con un antielmintico era di sette, tutti appartenenti al tipo che nello stesso anno Stiles pubblicò come una nuova specie: *Uncinaria americana*) all'ingoiamento casuale di qualche larva, avvenuto durante le mie manipolazioni giornaliere del materiale di esperienza; in questa interpretazione mi induceva la constatazione della entità minima dell'infezione rispetto al numero grandissimo di larve penetrate nella mia pelle nell'esperienza.

Dopo vari mesi il Dott. Noè, dopo aver soggiornato a lungo in luogo dove l'anchilostomiasi è endemica, riscontrò nelle sue feci scarsissime uova di *Anchilostoma* (dimostranti una infezione di una entità minore di quella assunta da me), che siamo perciò incerti se riferire all'esperienza subita.

Nel marzo 1903 in un cane che aveva una lieve infezione di *Doehmius trigonocephalus* deposi circa 800 larve mature sulla pelle del dorso; al 7° giorno dell'esperienza lo uccisi: nell'intestino trovai solo i *Doehmius* perfettamente sviluppati (rappresentanti l'infezione preesistente). In un altro cane cui avevo dato per bocca larve delle stesse colture l'infezione invece riuscì.

Il 14 aprile altra esperienza fatta su un cane, libero dall'infezione, mediante altre 300 larve; risultato ugualmente negativo ebbi quando, al 10° giorno della esperienza, uccisi il cane.

Il 6 agosto tentai l'infezione su un altro cane con circa 400 larve, al 13° giorno dell'esperienza lo uccisi ed ebbi anche in questa esperienza risultato negativo.

Possedendo del materiale di *Anchilostoma* umano con cui poter fare altre esperienze, e non potendo compierlo su me perchè ospitavo ancora qualche *Anchilostoma* residuo di una infezione provocata sperimentalmente e di cui parlerò in seguito, alla difficoltà di trovare un soggetto in cui provare l'infezione ovviò il Prof. Grassi ritentando sopra sè stesso l'esperimento: sulla pelle del suo piede furono deposte 10 gocce contenenti ciascuna oltre 50 larve. L'esame delle feci eseguito ripetutamente fino ad oggi ha dato risultato completamente negativo rispetto alla presenza di uova del parassita. L'infezione attraverso la pelle non si è dunque verificata.

Delle surriferite mie esperienze può trovarsi la relazione particolareggiata in due Note pubblicate in proposito (1).

Il 3 gennaio 1905 ad un piccolo cane di circa quaranta giorni di età (il Looss aveva obiettato, a infirmare i risultati delle precedenti esperienze,

(1) Rendiconti della R. Accademia dei Lincei, vol. XI, 1° sem., serie 5ª, fasc. 5ª, 1902; Gino Pieri, *Sul modo di trasmissione dell'Anchilostoma duodenale*. — Ibid., vol. XII, 2° sem., serie 5ª, fasc. 9ª, 1903; Gino Pieri, *Nuove ricerche sul modo in cui avviene l'infezione da Anchilostoma*.

che erano fatte su cani adulti), tosai colla forbice il pelo del dorso fino a 1 mm. circa di altezza e per l'estensione di un pezzo da cinque franchi, inumidii con ovatta bagnata la superficie tosata e vi deposi sopra 7-8 gocce di acqua contenenti circa 500 larve di *Dochmius* mature e vivaci. Più di un'ora più tardi (il liquido si era seccato da un quarto d'ora) seguendo l'esempio del Looss, lavai abbondantemente la parte con alcool assoluto. Lo stesso giorno feci ingoiare a un cane (che dall'esame delle feci si era dimostrato indenne di *Anchilostoma*) un centinaio di larve della stessa coltura. Il 4 gennaio eseguii un tentativo analogo di infezione attraverso la pelle su un secondo cane della stessa età per mezzo di larve provenienti dalla stessa coltura.

Il giorno 11 gennaio uccisi il primo cane. L'esame microscopico dell'intestino, dello stomaco, dell'esofago, della trachea, del sangue del cuore destro, fu negativo rispetto alla presenza di *Anchilostomi* o di larve.

Il 22 gennaio (diciannovesimo giorno dell'esperienza) morì il secondo cane per una invaginazione intestinale; su di esso praticai tutte le ricerche suddescritte con identico risultato negativo.

Che il materiale usato in queste esperienze fosse adatto, lo dimostra il fatto che il cane di controllo al quale avevo somministrato le larve per bocca, a cominciare dal 22 gennaio presentò uova di *Anchilostoma* nelle feci: l'infezione per via orale era riuscita.

Il 16 febbraio 1905 in un canino di circa un mese furono iniettate sotto la pelle del dorso circa 150 larve di *Dochmius*, tenute preventivamente per mezz'ora in una soluzione al 5‰ di Phenosalyl (nella quale altre larve delle stesse colture sopravvissero per 3 o 4 ore). A un canino di controllo furono somministrate per bocca un centinaio di larve che avevano subito un trattamento analogo. Dopo 10 giorni fu ucciso il primo cane e l'esame dell'intestino dette risultato negativo. Il giorno 27 nel cane di controllo ucciso riscontrai quattro vermi a diverso stadio di sviluppo (il più avanzato aveva circa 3 mm. di lunghezza): attribuii la scarsità dell'infezione alla soverchia tossicità della soluzione sterilizzante usata.

Il 23 marzo in un canino di 40 giorni furono inoculate sotto la pelle dell'addome 5 o 600 larve di *Dochmius* tenute preventivamente in una soluzione all'1‰ di Phenosalyl per 48 ore (altre larve tenute in una soluzione dello stesso titolo dopo una settimana erano ancora viventi). Altrettante larve, ugualmente trattate, furono date per bocca a un canino fratello del precedente. Il giorno 18 aprile (26 giorni dopo l'esperienza) furono uccisi ambedue: nel primo cane le più diligenti ricerche fecero trovare nell'intestino 6 *Dochmius* perfettamente sviluppati. Lo stesso giorno fu ucciso il cane di controllo e nel suo intestino si trovò una quantità grandissima (varie centinaia) di *Dochmius*. Esaminati al microscopio i *Dochmius* trovati nell'intestino del cane infettato per via cutanea riscontrai che appartenevano alla specie *D. stenocephalus*; alla stessa constatazione mi portò l'esame di

quelli riscontrati nel cane infettato per via orale. Anche le altre esperienze che seguono furono eseguite con parassiti appartenenti alla specie *D. stenocephalus*.

Il 9 marzo deposi parecchie centinaia di larve sulla pelle di un canino di circa due mesi. A un altro cane della stessa età furono date per bocca una sessantina di larve provenienti dalla stessa coltura. Il 22 fu ucciso il primo cane; l'esame dell'intestino riuscì negativo. Il 24 fu ucciso l'altro; nell'intestino si trovavano molti *Dochmius* (parecchie decine) a vario stadio di sviluppo (della lunghezza di 3-7 mm.).

Il 6 aprile in un canino di un mese furono depositate sulla pelle del dorso circa 2000 larve, e ad un altro canino della stessa età furono fatte ingoiare alcune centinaia di larve provenienti dalla stessa coltura. Il giorno 18 furono uccisi ambedue: nell'intestino del primo si trovarono due *Dochmius* maschi, in quello di controllo moltissimi *Dochmius* della lunghezza di 6-10 mm.

Da tutte le ricerche suesposte, mie e di altri, la prima conclusione che si può trarre è che l'infezione da *Anchilostoma* attraverso la pelle può verificarsi; e a questo proposito io sono stato indotto a modificare la mia antica opinione dalle esperienze ulteriori compiute da me e dagli altri osservatori.

Ora dobbiamo domandarci: quale è la via più importante nell'infezione, la orale o la cutanea? Io sono di opinione che la via orale resti come la via principale di infezione.

Questa conclusione risulterebbe evidentissima dalle esperienze eseguite da me. Io tentai sperimentalmente l'infezione nel cane per 15 volte: 9 volte per la via cutanea e di queste nove esperienze *due sole* riuscirono positive e con sproporzione straordinaria fra il numero delle larve deposte sulla pelle (5-600 una volta, 2000 circa un'altra) e il numero dei parassiti trovati nell'intestino (rispettivamente 6 e 2); 6 volte la tentai per via orale e in *tutte* ebbi esito positivo: nei casi in cui il cane infettato fu ucciso (4 su 6) trovai un numero di parassiti tanto notevole che mi convinsi corrispondere approssimativamente al numero delle larve somministrate per bocca; a questi quattro casi fa eccezione quello in cui l'infezione fu tentata con larve tenute in soluzione di Phenosalyl troppo concentrata, ma in questo se l'infezione per via orale fu scarsa quella per via cutanea fu addirittura nulla. Dei quattro tentativi di infezione nell'uomo per via cutanea due soli riuscirono e in porzioni scarsissime: nel caso mio sette parassiti contro parecchie migliaia di larve deposte sulla pelle, nel caso di Noè (dato anche che questo possa essere legittimamente considerato) un numero anche minore di parassiti contro alcune migliaia di larve. Al contrario un tentativo per via orale tentato su di me riuscì perfettamente: nel marzo 1902, dopo espulsi gli *Anchilostomi*

della prima infezione procurata per via cutanea ingoiai una cinquantina di larve; le uova comparvero nelle mie feci al trentesimo giorno dell'esperienza; dopo un anno, mediante una forte dose di timolo, eliminai quarantadue *Anchilostomi*; la persistenza di scarse uova nelle mie feci rivela che restano ancora nel mio intestino alcuni pochi parassiti. La corrispondenza fra il numero delle larve ingoiate e quello dei parassiti sviluppatasi è dunque evidente.

Alla stregua del mio criterio della maggiore importanza della infezione per via orale, esaminiamo le esperienze di Looss, di Schaudinn e di Lambinet. Looss non specifica il numero approssimativo delle larve usate nell'infezione per via cutanea e quello dei parassiti rinvenuti nell'intestino. Schaudinn depone sulla pelle di un *Inuus* 6 gocce di acqua contenente larve e trova 39 parassiti nell'intestino; in un altro *Inuus* trova come risultato di un tentativo di infezione 14 vermi. Lambinet non dice quante larve avesse iniettato in un cane: trovò parecchie (quante?) centinaia di larve: ma l'esperienza è stata fatta in condizioni straordinariamente extranaturali (iniezione nella cavità peritoneale), e inoltre in un secondo tentativo di infezione simile il numero dei vermi trovato fu molto minore.

Restano le esperienze di Calmette e Bréton, e Liefmann che si dichiarano senz'altro sostenitori dell'opinione che l'infezione per via cutanea sia più importante di quella per via orale.

Calmette e Bréton riferiscono di due esperienze fatte coll'*Anchilostoma* del cane una per via orale una per via ipodermica riuscite ambedue positive; ma ciò non porta gran luce pel nostro problema, poichè non sappiamo quale fosse l'entità rispettiva delle due infezioni che ne risultarono. Essi basano inoltre la loro opinione sul fatto che riuscirono a infettare un cane per via ipodermica coll'*Anchilostoma* dell'uomo (non dicono quante larve abbiano iniettato): trovarono nell'intestino due soli anchilostomi sviluppati: un maschio e una femmina, e l'infezione non riuscì loro per via orale. A ciò obbietto anzitutto che questa unica esperienza è stata compiuta in rapporti troppo anormali fra parassita e ospite (*Anchilostoma* dell'uomo sul cane) perchè se ne possano trarre conclusioni sicure, e poi che a me, è riuscito di ottenere l'infezione del cane per via orale coll'*Anchilostoma* dell'uomo, come riferisco in una nota che sarà pubblicata nel fascicolo prossimo di questi Rendiconti (1).

Delle esperienze di Liefmann una (quella del 3° cane) ha poca importanza per la nostra questione perchè non conosciamo l'entità dell'infezione ottenuta per via cutanea; una (2° cane) darebbe ragione alla mia opinione dell'importanza maggiore della infezione per via orale: per circa 1000 larve deposte se ne svilupparono una cinquantina: in quattro altre esperienze il numero dei parassiti sviluppatasi per infezione cutanea era quasi uguale a quello delle larve. In un cane infettato per via orale si sviluppò un numero

(1) Gino Pieri, *Osservazioni sulla biologia dell'Anchilostoma*.

di parassiti notevolmente inferiore a quello delle larve ingerite. Liefmann si domanda se nell'uomo adulto l'infezione colle larve per via orale dia altrettanti vermi nell'intestino; a questo dubbio può rispondere affermativamente l'esperienza eseguita su me stesso.

Alle quattro esperienze dimostrative di Liefmann a me non resta che opporre i concordi risultati delle mie 20 esperienze (15 nel cane, 5 nell'uomo) e di aggiungere alla dimostrazione della mia tesi gli argomenti seguenti:

I. Non tutte le larve che giungono a contatto della pelle vi penetrano: chiunque abbia compiuto tentativi di infezione attraverso la pelle ha potuto constatare un numero non indifferente di larve disseccate e deformate fra il detritus proveniente dal disseccamento del materiale culturale.

II. Non tutte le larve penetrate nella pelle giungono all'intestino. Il Looss spiega le svariate e frequenti eruzioni che si verificano sulla pelle degli abitanti dei distretti in cui l'anchilostomiasi è endemica, attribuendole a larve che si sono perdute nella loro immigrazione dalla cute senza trovare la strada per giungere all'intestino. Inoltre, come ha osservato il Looss, varie larve periscono attraversando i gangli linfatici (1).

III. L'infezione attraverso la pelle si verifica tanto meno facilmente, rapidamente e abbondantemente, quanto più avanzati in età sono gli animali da esperimento. Ciò afferma lo stesso Looss (2), il quale ritiene che tali constatazioni debbano valere anche per ciò che riguarda l'infezione dell'uomo. A nessuno può sfuggire il valore pratico di tale constatazione.

Concludendo: *l'infezione da Anchylostoma nell'uomo avviene, oltreché per l'ingestione delle larve mature (Leichtenstern), per penetrazione attiva di queste attraverso la pelle, e ciò sia nell'Anchylostoma duodenale (Looss) che nella Uncinaria americana (Pieri).*

Similmente il cane si infetta: 1° quando ingerisce larve mature di Dochmius trigenocephalus (Leuckart) o di D. stenocephalus (Railliet), 2° quando le larve mature di D. trigenocephalus vengano deposte sulla pelle (Looss) o si inoculino ipodermicamente (Calmette e Bréton) e si iniettino nella cavità peritoneale (Lambinet); anche le larve mature di D. stenocephalus producono l'infezione, sia se deposte sulla pelle, che iniettate ipodermicamente (Pieri).

Fra i due meccanismi di penetrazione del parassita quello che dà un'infezione più costante e abbondante è l'introduzione per via orale (Pieri).

(1) A. Looss, *Von Würmern und Arthropoden hervorgerufene Erkrankungen*; in C. Mense, *Handbuch der Tropenkrankheiten* (Leipzig, 1905), pag. 131-32.

(2) *Ibidem*.