

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVIII.

1911

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1911

Patologia. — *Sulla Leishmaniosi e sul suo modo di trasmissione.* Nota VI preliminare ⁽¹⁾ del dott. CARLO BASILE, presentata dal Socio B. GRASSI.

Nelle mie Note precedenti ⁽²⁾ ho già dimostrato, che la pulce *serraticeps* trasmette la Leishmaniosi ⁽³⁾; ed ho sempre avanzato la ipotesi che anche la pulce *irritans* possa propagare questa malattia.

Recatomi recentemente a Bordonaro (Messina), per ragione dei miei studi, ebbi in quel paese notizia che un bambino era da qualche mese ammalato di Kala-Azar. Credo bene che questo sia il caso che dal medico locale dott. Micciancio è stato dichiarato all'Ufficio d'Igiene di Messina ⁽⁴⁾. L'abitazione dell'infermo è posta in località ove io, nell'ottobre 1910, potei constatare la presenza di cani con Leishmaniosi. La madre del bambino ha escluso, per diverse ragioni, che cimici abbiano potuto pungere il suo figliuolo; ha dichiarato però d'aver visto spesso nella sua abitazione cani appartenenti alle famiglie vicine. Dietro mia richiesta ha raccolto diverse volte, in giorni consecutivi, fra le masserizie a contatto del bambino, delle pulci.

Seguendo la tecnica di cui mi sono sempre giovato in queste ricerche, ogni pulce venne osservata al microscopio semplice per accertarne la specie, e subito da me dissezionata. Dall'intestino di ciascuna di esse, allestii un preparato per strisciamento, che fissai e colorai secondo il metodo di Giemsa. Le pulci furono tutte riconosciute *irritans*; una di esse, all'esame microscopico, rivelò nell'intestino la presenza di parassiti con plasma piriforme colorito in bleu pallido, con nucleo rotondeggiante, rosso violaceo e blefaro-blasto, ora a punta ora a bastoncino. Queste forme sono identiche a quelle di Leishmania da me già descritte nella pulce *serraticeps*.

Un'altra osservazione a questa si aggiunge: studiando gli ectoparassiti del cane, ho notato che la pulce *irritans* è abbastanza frequente su di esso; in una serie recente di ricerche, da me fatte in collaborazione coi dottori La

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia comparata della R. Università di Roma.

⁽²⁾ Rend. Acc. Lincei, 1910-1911.

⁽³⁾ A proposito di una recente pubblicazione di Sangiorgi (Pathologica, Maggio 1911) ricordo che sin dal Nov. 1910 in una mia nota « Sulla Leishmaniosi del cane ecc. » ho studiato la sintomatologia, il decorso clinico e la trasmissione di quest'infezione spontanea o naturale del cane che da me per primo è stata segnalata in Italia. Sin d'allora per indicare la suddetta infezione spontanea, come appare dalle mie note, ho sempre scritto « Leishmaniosi », mentre in quei casi in cui ho dovuto accennare all'infezione sperimentale ho specificatamente scritto « Leishmaniosi sperimentale ».

⁽⁴⁾ Vedi la rubrica « Notizie » di Malaria e Malattie dei paesi caldi, Aprile 1911.

Cava e Visentini, e che verranno fra giorni pubblicate, noi abbiamo notato, in una famiglia di un bambino ammalato di Kala-Azar, la presenza di una cagna con Leishmaniosi; su questa cagna la percentuale delle pulci appartenenti alla specie *irritans*, come sarà specificato, era notevolissima, e, fra le molte osservate, in una abbiamo anche rinvenuto abbondanti Leishmanie.

Queste ricerche confermano che anche la pulce *irritans* deve essere considerata come agente trasmissore dei parassiti di Leishman dal cane all'uomo, dall'uomo al cane, dall'uomo all'uomo, dal cane al cane.

Riservandomi lo studio dell'epidemiologia della Leishmaniosi (umana e canina), non solo in rapporto alle condizioni climatiche ma anche in rapporto alle relazioni che passano fra la infezione nell'uomo e la infezione nel cane, io qui rendo noto che ho iniziato degli esperimenti per stabilire il periodo dell'incubazione della malattia e per determinare se le pulci possano in tutte le stagioni inoculare il parassita; in altri termini quindi, se il ciclo evolutivo di esso parassita nelle pulci sia o no in rapporto alle condizioni di ambiente (temperatura).

Ho già pubblicato che pulci *serraticeps* ed *irritans* provenienti, dal dicembre in poi, da Bordonaro e passate subito, in Roma, su cani di un mese di età han determinato in questi una Leishmaniosi, che li ha condotti a morte dopo circa tre mesi e i cui primi sintomi si son manifestati circa un mese prima della morte. Oggi rendo noto che il 15 e 21 marzo 1911, su due cani nati in laboratorio il 17 febbraio 1911, posi delle pulci *serraticeps* e *irritans* provenienti da Bordonaro. Un cagnolino dello stesso parto fu tenuto per controllo. L'esperimento fu condotto con le stesse norme e nelle stesse condizioni di ambiente in cui si era svolto l'esperimento precedente.

I cagnolini su cui erano state poste le pulci non presentarono nulla di notevole sino ai primi di maggio; fu in questa epoca che cominciarono a dimagrire e a mostrarsi meno vispi. Il 25 maggio, in uno di essi eseguii la disarticolazione tibio-femorale e la puntura epatica; nei preparati per strisciamento del midollo e del succo epatico, non ho potuto rinvenire i parassiti. L'8 giugno il cagnolino su cui non erano stati eseguiti atti operativi (a scopo diagnostico) morì; il 12 giugno morì l'altro che, come ho già detto, era stato sottoposto alla disarticolazione della gamba ad alla puntura del fegato. All'autopsia il fegato in ambedue si mostrò pallido, la milza rosso-scura, come pure il midollo; le Leishmanie furono rinvenute in varia quantità nei vari organi. Il cane di controllo, grasso e vispo, fu ucciso, e, come era da attendersi, lo studio microscopico degli organi dette reperto negativo.

Dai risultati finora ottenuti posso desumere che le pulci raccolte a Bordonaro dal dicembre al marzo riescono infettanti (gli esperimenti in corso e quelli che sto per iniziare ci daranno i dati per l'infezione negli altri mesi).

Aggiungo che il parassita fu trovato negli organi (milza, midollo, fegato) dei cagnolini in esperimento pochi giorni prima della loro morte, ossia dopo circa tre mesi da che le pulci infette erano state passate su essi. Noto anche che, all'autopsia di tutti i cagnolini infetti, ho potuto notare un'attiva moltiplicazione del parassita nel fegato; su ciò tornerò in altra Nota.

Data la difficoltà di poter avere a disposizione succo splenico di ammalato di Kala-Azar, con abbondanti parassiti, per potere studiare sperimentalmente la vitalità di questi in vari insetti ematogafi, ho iniziato una serie di esperimenti (1) tentando di giovarmi a tale scopo dei parassiti di Leishman provenienti da culture. Scelsi dei tubi di cultura con abbondanti Leishmanie di origine umana (2) e canina (3). In alcuni di essi tubi misi delle pulci *serraticeps* ed *irritans*; in altri, delle cimici.

Da 6 a 40 ore dopo l'inizio dell'esperimento, che fu più volte ripetuto, gli insetti posti nei tubi con culture, morirono tutti, mentre di quelli posti in tubi di controllo (nei quali non fu messo alcun materiale), tenuti, come i precedenti, a 22°, ne morì solo una minima parte. La morte degli insetti dovè quindi dipendere, almeno in questi miei esperimenti, dall'ambiente nel quale essi si trovavano; giacchè quelli che raggiungevano le parti alte del tubo e si annidavano nel tappo, vivevano più a lungo.

Nel tubo digerente di tutti gli insetti in esperimento fu eseguita la ricerca del mezzo culturale; solo in poche pulci (morenti o morte) potei vedere qualche rarissima forma culturale di Leishmania.

(1) Questi miei esperimenti, qui dettagliatamente esposti, sono stati fatti ripetute volte dal 28 marzo al 30 aprile 1911. Allora, avendo saputo dal Gabbi, che nel suo laboratorio il Franchini si occupava dello stesso argomento, prima di comunicarli decisi attendere la Nota del Franchini stesso. Infatti nel maggio si pubblicò il numero di marzo di *Malaria e Malattie dei paesi caldi*, in cui il Franchini, con la data dell'8 aprile 1911, scrisse: «L'esame di numerosi preparati del contenuto del tubo digerente di *pulex irritans* e *serraticeps*, messe a succhiare nei tubi con colonie della Leishmania umana, ha dato risultati completamente negativi in riguardo alla vitalità e sviluppo di quest'ultima». Poichè egli aggiunse: «Gli studi continuano», ho deciso nuovamente di attendere la Nota definitiva ed in esteso. Invece nei primi di giugno si pubblicò il numero di aprile del suddetto periodico in cui, nella rubrica «Notizie», è annunciato che «il Franchini, proseguendo i suoi studi sullo sviluppo della Leishmania, ha veduto che essa, come non si riproduce nella *pulex serraticeps* ed *irritans*, così non sembra vivere e svilupparsi nell'intestino del *cimex lectularius*, nè nel *pediculus capitis*». Credo bene perciò comunicare adesso i miei esperimenti.

(2) Culture di Leishmaniosi umana mi furono gentilmente inviate dal Mesnil e dal Nicolle. Altre ne furono messe a mia disposizione dal Visentini.

(3) Le culture di Leishmaniosi canina furono da me e da Visentini ottenute dall'innesto, su mezzo Novy-Neal-Nicolle, di succo splenico, di un cane con Leishmaniosi. Ricordo che questo cane era stato da me infettato, per via naturale, mediante puntura di pulci (*serraticeps* ed *irritans*) provenienti da Bordonaro (Messina).

Questo risultato mi fece pensare che gli insetti in esperimento avevan potuto infiggere il loro rostro nella parte solida del mezzo culturale, sulla cui superficie accidentalmente, per la manipolazione dei tubi, si trovava qualche parassita: ma che certamente non avevan potuto succhiare il liquido di condensazione ove, come è noto, si sviluppano principalmente in gran quantità i parassiti del Kala-Azar⁽¹⁾.

Eseguii perciò ricerche mettendo pulci e cimici a contatto con soluzioni acquose, saline e zuccherine, colorate al bleu di metilene: ma non potei mai riscontrare questo liquido colorato nel loro intestino. Per togliere il dubbio che questi risultati negativi fossero potuti dipendere dall'uso del bleu di metilene, posi le soluzioni di questo colore su pezzettini di mela, ed ho potuto solo allora ottenere, con osservazioni fatte in varie ore, che circa il 60 % degli insetti in esperimento presentassero nel loro intestino il suddetto colore.

Così dal complesso di questi miei esperimenti sembra lecito dedurre che i suddetti risultati (negativi o quasi), ottenuti mettendo le pulci e le cimici a succhiare forme culturali di *Leishmania*, debbono trovar la spiegazione nelle particolari condizioni anatomiche dell'apparato succhiatore di questi insetti. Non essendo riuscito adunque nel modo sopra esposto ad infettare con numerose forme culturali di *Leishmania* (provenienti dall'uomo e dal cane) le pulci (*serraticeps ed irritans*) e le cimici, volli spargere gran quantità di liquido di condensazione delle culture su pezzetti di mela; in questo modo mi fu più facile vedere, specialmente nell'intestino delle pulci, forme isolate e rare di *Leishmania* nei diversi stadi evolutivi; ma questi parassiti presentavano una degenerazione tanto più avanzata per quanto maggior tempo era passato dall'inizio dell'esperimento. Questa degenerazione dovrebbe esser stata cagionata da sostanze contenute nella mela; infatti, ponendo sterilmente dei pezzettini di questo frutto nel liquido di condensazione delle culture, i parassiti, che erano abbondanti, dopo 3-5 giorni scomparvero.

Restava ancora un'altra via da seguire: mescolare il liquido di condensazione delle culture al succo splenico⁽²⁾ o al sangue; ma anche in questi esperimenti, pur avendo notata la presenza di elementi splenici nel tubo digerente delle pulci, ebbi risultato negativo per la vitalità dei parassiti che riscontrai anche qui rari e in via di degenerazione. L'osservazione microscopica fatta sul sangue e sul succo splenico addizionati della parte liquida

(¹) Nei vari passaggi da me ottenuti dalle culture di *Leishmaniosi* (umana e canina) ho rinvenuto i parassiti solamente nel liquido di condensazione. Le ricerche di Jemma e quelle recenti di Franchini attestano che i parassiti del Kala-Azar possono però anche svilupparsi sulla superficie dell'agar.

(²) Per ottenere il succo splenico per questi esperimenti ho vivisezionato cani neonati e sicuramente non affetti da *Leishmaniosi* come lo dimostrarono i preparati per strisciamento della milza, del midollo e del fegato.

del mezzo culturale, mi mostrò che le forme culturali di *Leishmania*, messe direttamente a contatto col sangue o col succo splenico a temperatura ambiente non tardano a presentare caratteri degenerativi; ciò fa pensare che le suddette forme di *Leishmania* quando vennero succhiate dalle pulci assieme al succo splenico se non erano già morte, certamente non erano più vitali.

Anche a me come al Franchini gli esperimenti colla *Leishmania* umana proveniente da culture « han dato risultati negativi in riguardo alla vitalità e sviluppo di quest'ultima » nel tubo digerente di *pulex serraticeps* e *irritans* e di *Cimex lectularius*. È giusto concludere che coi metodi sin ora seguiti non si riesce ad infettare i suddetti insetti colle culture di *Leishmania* umana. D'altro canto però bisogna anche notare che, contrariamente a quanto può sembrare al lettore, nè gli esperimenti del Franchini nè i miei permettono alcuna illazione riguardo alla capacità o meno delle pulci e delle cimici a trasmettere la *Leishmaniosi*, perchè del pari negativi riescono gli esperimenti riguardo alla vitalità e sviluppo delle forme culturali di *Leishmania*, di origine canina, nella pulce *serraticeps* la quale indiscutibilmente si infetta delle *Leishmanie* (che succhia direttamente dal cane) ed è capace di trasmetterle.

Cade così l'ipotesi che le forme culturali di *Leishmania* umana si comportino riguardo alle pulci in modo differente delle forme culturali di *Leishmania* canina. Fin'ora quindi tutto concorre a confermare che non vi è differenza tra la *Leishmania* umana e la canina, e che essa viene trasmessa sia dalla pulce *serraticeps* sia dall'*irritans*.

E. M.