

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXII.

1915

---

SERIE QUINTA

---

RENDICONTI

---

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

---

VOLUME XXIV.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCÆI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1915

Patologia. — *Ulteriori ricerche sulla leishmaniosi interna del Mediterraneo.* Nota del dott. CARLO BASILE<sup>(1)</sup>, presentata dal Socio B. GRASSI.

#### Trasmissione della leishmaniosi interna per via gastrica.

Le ricerche sulla trasmissione della leishmaniosi interna per via gastrica sono state da me eseguite dal marzo al maggio dell'anno 1914; io ho tardato a pubblicarle, perchè mi proponevo riferire tutta una nuova serie di ricerche originali nel mio lavoro definitivo sulla leishmaniosi interna del mediterraneo, che sarebbe stato di già certamente pubblicato se, in seguito ai ripetuti esperimenti di Laveran e Franchini, sull'infezione dei topi per mezzo di flagellati di invertebrati, anche per consiglio del mio Maestro prof. B. Grassi, non avessi ritenuto più opportuno, nell'interesse scientifico, differirne la pubblicazione e vagliare, con nuove ricerche originali, le conclusioni di questi autori.

Tuttavia, avendo letto nel Tropical Diseases Bulletin (15 aprile 1915) alcune ricerche dell'Archibald sulla trasmissione della leishmaniosi interna per via gastrica, io mi propongo in questa Nota riferire alcune mie ricerche simili a quelle dell'Archibald.

Questo autore ha ottenuto la trasmissione della leishmaniosi (virus del Soudan) in due scimmie, facendo mangiare ad una di esse materiale di una scimmia sperimentalmente infetta, ed all'altra materiale di un caso mortale di leishmaniosi.

L'Archibald ha tentato anche di infettare un cucciolo per via gastrica e sebbene il cucciolo presentasse, dopo qualche tempo, segni di dimagrimento e di anemia, tuttavia sacrificato dopo 162 giorni, non è stata mai rinvenuta alcuna *leishmania* nei suoi organi emopoietici; soltanto nel fegato l'autore avrebbe osservato taluni corpi cocciformi che, dopo un'accurata disamina dei lavori di Smallman e Wenyon, egli ritiene che sieno di origine protozoica e che debbano associarsi alle *leishmania*.

Le mie ricerche sono state eseguite su due cuccioli; ambedue dell'età di un mese, nati ed allevati in laboratorio con tali cautele da poter assicurare che non sono stati mai in contatto con insetti ematofagi. Essi cuccioli il giorno 7 marzo dell'anno 1914 mangiarono il fegato e la milza di un cane intensamente infetto di leishmaniosi naturale; dopo qualche tempo presentarono segni di dimagrimento. Al 60° giorno dall'aver mangiato il

(<sup>1</sup>) Dall'istituto di Anatomia Comparata della R. Università di Roma.

materiale infetto, uno di essi, il più dimagrito, fu sacrificato; l'altro fu sacrificato al 67° giorno. Nei preparati per strisciamento (fissati e coloriti al Giemsa) eseguiti dalla milza, dal midollo osseo e con maggior frequenza in quelli eseguiti dal fegato, io ho osservato delle forme, le quali presentavano un plasma roseo o bleu-chiaro contenente nel suo interno uno o più corpiccioli dall'apparenza di cromatina; in questi stessi preparati, provenienti dagli organi emopoietici dell'uno e dell'altro cucciolo, io ho anche osservato, sebbene molto raramente, altre forme ancora le quali presentavano la morfologia tipica delle *leishmania*; esse mostravano un plasma roseo o bleu-chiaro, nel cui interno distinguevasi un macronucleo ed un micronucleo.

Io ritengo che le suddette forme costituite da un plasma contenente nel suo interno uno o più corpiccioli di cromatina appartengono a stadi evolutivi di *leishmania*; infatti io ho potuto riscontrare forme del tutto identiche nel fegato e nella milza di giovani conigli, ripetute volte inoculati con virus culturale di *leishmania* di origine infantile e di origine canina, senza che li avessi mai osservati nel fegato e nella milza di numerosi altri giovani conigli sani tenuti per controllo.

Come è costante metodo in tutte le mie ricerche sperimentali, anche in questi miei esperimenti di trasmissione della leishmaniosi interna per via gastrica io ho tenuti per controllo altri due cuccioli nati nello stesso parto ed allevati nelle stesse condizioni dei due cuccioli che hanno mangiato materiale infetto di *leishmania*.

Questi due cuccioli di controllo si sono mantenuti sempre sani. Anche essi furono sacrificati come i precedenti, e per quante minuziose ricerche avessi eseguito, non ho mai osservato nei loro organi alcuna delle forme surriferite.

Risulta per ciò dalle mie ricerche che io sin dal maggio dell'anno 1914 ho ottenuto in cuccioli, per via gastrica, la trasmissione della leishmaniosi interna di origine canina.

#### **Concomitanza di infezione da *Leishmania* e da *Piroplasma* nel cane.**

Un'altra osservazione fatta dall'Archibald sulla concomitanza di infezione nell'uomo da *leishmania* e da *filaria* mi induce a riferire in questa Nota un mio esperimento eseguito anche esso nei mesi di aprile e maggio dell'anno 1914 e che è stato da me oralmente comunicato all'Associazione fra i liberi cultori di scienze mediche e naturali dell'Università di Roma nella seduta dell'11 giugno 1914.

Si tratta, per quanto a me consta, del primo caso di concomitanza della leishmaniosi con altra infezione protozoica.

Un cane anemico e dimagrito intensamente infetto di leishmaniosi fu tenuto in osservazione per 15 giorni; l'esame microscopico del midollo osseo

tibiale rivelò soltanto la presenza di numerosissime *leishmania*; non furono riscontrati altri parassiti; l'esame microscopico del sangue periferico ripetuto quotidianamente non rivelò mai nè *leishmania*, nè altri parassiti di sorta.

Al 15° giorno di osservazione questo cane fu portato in un canile di uno degli istituti scientifici dell'Università ove, era a mia conoscenza, che si trovavano cani con numerose zecche e che alcuni di essi erano infetti di piroplasmosi.

Il cane infetto di leishmaniosi dopo 38 giorni da quando era stato posto a convivere con i cani infetti di piroplasmosi fu da me riveduto; esso presentava dimagrimento ancor più notevole, impossibilità assoluta di reggersi sul treno posteriore, notevoli edemi alle estremità; ancora due ulcere apparivano presso l'articolazione tibio tarsica; esse si approfondivano notevolmente e con uno specillo io ho potuto accertare che esse erano in continuità l'una dell'altra e che i tessuti *extra* articolari erano stati distrutti. L'esame microscopico del materiale tolto da queste ulcere rivelò la presenza non solo di tipiche *leishmania* ma anche di *piroplasma*; il sangue periferico esaminato successivamente era ricco delle varie forme tipiche di *piroplasma*.

L'animale dopo altri pochi giorni è morto e dai suoi organi emopoietici, ma specialmente dal midollo costale, io ho potuto ottenere dei preparati in cui è veramente notevole la quantità dei due protozoi, *leishmania* e *piroplasma*, associati l'uno all'altro.

#### L'infezione sperimentale da *leishmania* nelle pulci.

Il dott. Pereira Da Silva ha pubblicato recentemente negli *Arquivos do Instituto Camara Pestana* (tomo IV, fasc. III, Lisbona, 1915) alcuni suoi tentativi di infezione sperimentale di pulci di uomo (*Pulex Irritans*) con virus di leishmaniosi interna infantile, eseguiti per un periodo di 75 giorni dal 26 maggio all'8 agosto 1914. Le pulci adoperate dall'autore sono state soltanto 25, le quali, legate col metodo del Noeller, erano poste a succhiare ogni due giorni sulla cute di un bambino infetto.

Dai protocolli riferiti dall'autore, risulta che esse sono state divise in tre gruppi: un primo gruppo, di 8 pulci (26 maggio - 8 agosto 1914): un secondo di 9 pulci (11 giugno - 8 agosto 1914); un terzo di 8 pulci (21 luglio - 8 agosto 1914). Soltanto 2 pulci appartenenti al primo gruppo han succhiato sul bambino infetto un massimo di 38 volte; tutte le altre han succhiato un numero di volte sempre più decrescente fino ad un minimo di due.

L'autore assicura di aver nutrito sulla propria cute per 15 giorni ogni pulce prima di sottoporla all'esperimento, per accertare che non fosse naturalmente infetta di *herpetomonas* o *crithidia*; e tenendo presente quanta influenza abbia la temperatura sul ciclo evolutivo dei protozoi patogeni nei loro ospiti trasmissori, egli assicura anche che le pulci, subito dopo il pasto, erano trasportate dall'ospedale di s. Josè, ove degeva il bambino infermo,



all'istituto Camara Pestana, e quivi eran poste in una stufa alla temperatura di 22° ctgr.; questa temperatura, come io ho dimostrato, è molto opportuna all'ulteriore sviluppo delle *leishmania*. Il Pereira ha esaminato le deiezioni delle 25 pulci sia all'atto del succhiamento, sia negli intervalli, ma non ha mai riscontrato in esse *leishmania*; egli perciò conclude l'esposizione delle sue ricerche scrivendo, in modo obbiettivamente scientifico, che « se esse non possono dimostrare in modo assoluto che le pulci non si infettano, dimostrano tuttavia che questa infezione è molto difficile ».

Che la infezione di pulci con virus di *leishmania* sia difficile, è stato anche da me osservato in talune ricerche fin oggi non pubblicate; del resto tale difficoltà è stata anche da me rilevata in natura sin dal 1910, quando io, in base ad estesissime ricerche nelle pulci raccattate sui bambini e sui cani infetti di *leishmania*, ho potuto osservare ed ho pubblicato che soltanto il 4 per mille di esse erano infette di protozoi « tipo *leishmania* »; i quali protozoi, inoculati in cuccioli ed in topi (*mus musculus*) hanno determinato in questi animali un'infezione caratterizzata dagli stessi sintomi e dallo stesso reperto parassitario che si osservano nelle leishmaniosi naturale o sperimentale.

Una tale difficoltà di infezione naturale e sperimentale delle pulci con virus di *leishmania* risiede certamente nella grande rarità con cui si rinvencono i parassiti nel sangue circolante e dei quali taluni forse non sono neppure adatti all'ulteriore sviluppo; più particolarmente nelle ricerche del Pereira, condotte con attenzione, noi ci sentiamo autorizzati a ritenere che nessuna delle pulci in esperimento ingerì mai *leishmania*, perchè questi protozoi come ci assicura l'Autore, mai sono apparsi all'esame il più minuzioso di tutte le deiezioni raccolte, sia durante il pasto, sia negli intervalli; evidentemente se le *leishmania* non erano state ingerite, non potevano svilupparsi!!!

Io non mi sarei fermato su tali ricerche del Pereira se questo autore non avesse tentato una generalizzazione delle idee del Brumpt sulla *xenodiagnostica*, e non avesse ricordato le ricerche del Wenyon e del Patton sull'infezione sperimentale delle pulci con virus di *leishmania tropica* e *leishmania donovani* per giungere ad affermare, inaspettatamente, che le sue ricerche fin oggi dimostrano che « le pulci (del cane e dell'uomo) non sono gli agenti di trasmissione della leishmaniosi umana e canina ».

Tale affermazione del Pereira è in evidente contrasto non solo colle sue stesse ricerche che, come egli scrive in precedenza nella sua stessa Nota « non possono dimostrare in modo assoluto che le pulci non si infettano », ma è anche in contrasto con le altre sue simili ricerche da lui precedentemente pubblicate e nelle quali ha ottenuto reperto positivo di infezione sperimentale delle pulci (del cane) ponendole a succhiare su un cane sperimentalmente infetto di leishmaniosi di origine infantile; ricerche queste che

sono state già da me esaminate in una mia precedente pubblicazione (Rendic. Accad. Lincei, 1914) e che per brevità di spazio io qui non ripeto.

Rispetto alla *xenodiagnostica* proposta dal Brumpt per la diagnosi della tiroidite parassitaria (quando gli altri mezzi diagnostici non sono applicabili o sono negativi) io osservo al Pereira che lo stesso Brumpt, che riferisce di aver ottenuto il 100 % di successi sperimentando con *Triatoma* o *Rhodnius* e soggetti infetti di tiroidite parassitaria scrive a tal proposito « questa percentuale distingue questi meravigliosi ospiti trasmissori dalle *Glossine* che nella malattia del sonno ed in altre tripanosomiasi animali si infettano in una proporzione minima ».

È stato infatti osservato che molti protozoi patogeni ingeriti dai loro ospiti trasmissori naturali non compiono in essi l'ulteriore sviluppo, ma invece degenerano e scompaiono; le cause di questi fenomeni non sono fino oggi note.

Il Grassi, studiando lo sviluppo dei parassiti malarici nell'intestino dell'*Anopheles*, ha potuto osservare in taluni *Anopheles* la degenerazione e la scomparsa dei parassiti malarici; egli ha interpretato questo fenomeno con un fenomeno di immunità congenita che presentano taluni *Anopheles* e ne ha dato la dimostrazione sperimentando con *Anopheles* allevati in laboratorio.

Il Minchin e Thomson studiando recentemente il ciclo evolutivo del *Tripanosoma Lewisi* nella pulce del topo (*Ceratophyllus fasciatus*) hanno potuto accertare che nelle numerosissime pulci poste a succhiare su topi intensamente infetti di *Trip. lewisi* soltanto in alcune di esse si è compiuto l'ulteriore sviluppo del tripanosoma nel tubo digerente: in una percentuale approssimativa del 25%; nelle altre pulci il parassita ingerito è ben tosto degenerato e scomparso.

Nella malaria e nelle tripanosomiasi i parassiti sono talora frequentissimi nel sangue periferico; mentre nella leishmaniosi interna nelle regioni mediterranee è ormai definitivamente accertata la loro costante rarità.

Al lume quindi delle suddette osservazioni sulla frequenza o meno dei protozoi patogeni nel sangue periferico, sulla loro capacità o no all'ulteriore sviluppo e sulla recettività o refrattarietà dei loro ospiti trasmissori naturali si può oggi dedurre che nessun valore scientifico hanno gli esperimenti del Pereira, e che è per lo meno prematura la conclusione che il Wenyon ed il Patton hanno voluto trarre dalle loro ricerche di infezione sperimentale delle pulci con virus di *leishmania tropica* e *leishmania donovani*.