

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCIV.

1897

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME VI.

2° SEMESTRE



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1897

Patologia. — *Risultati delle ricerche fatte in India sulla vaccinazione preventiva contro la peste bubbonica e sulla sieroterapia.* Nota di ALESSANDRO LUSTIG, presentata dal Socio BIZOZERO.

Scoperto l'agente specifico della peste e resi noti dal Yersin i suoi primi esperimenti d'immunizzazione degli animali contro la peste, ci ponemmo (Lustig e Galeotti) nel dicembre 1896 alla ricerca di un metodo sicuro o rapido di vaccinazione preventiva. Dopo aver tentato invano vari metodi, per ottenere un'immunità attiva, ricavammo per via chimica dal corpo dei bacilli pestiferi, virulenti e di recente coltivazione, una sostanza tossica (nucleo-proteide) affatto libera da batteri vivi o morti, la quale iniettata in minime dosi sotto cute agli animali sensibili, conferisce loro, dopo qualche giorno, un'immunità attiva di lunga durata. I ratti, che ammalano facilmente di peste per infezione naturale, si dimostrarono resistenti, anche dopo due mesi, all'inoculazione intraperitoneale di grandi quantità di colture virulentissime.

Questo vaccino è in dosi singole di 2 milligr. quasi innocuo per l'uomo, che reagisce con leggeri fenomeni locali e generali della durata di 2 giorni.

Già i piccoli animali da laboratorio, vaccinati ripetutamente con piccole dosi danno, dopo qualche tempo, un siero dotato di spiccate proprietà curative; e dal cavallo, vaccinato con forti dosi, si ricava, dopo qualche settimana, un siero di sangue pure molto attivo.

I risultati di tutte queste ricerche vennero comunicati in ogni loro particolare, nell'aprile e maggio 1897 all'Accademia medica di Torino.

Le nostre ricerche richiedevano un indirizzo più pratico e perciò mi prefissi fin dal marzo a. c. di portarmi a Bombay, dove infieriva terribile la peste; ma per ragioni indipendenti dalla mia volontà, dopo aver superato non pochi ostacoli, mi riuscì di partire per l'India, coll'appoggio del nostro Governo e di quello inglese, solo verso la fine di maggio, assieme al dott. Gino Galeotti e al dott. Ferd. Malenchini, aiuto alla cattedra di anatomia patologica. Una parte delle spese venne sostenuta personalmente dai componenti la spedizione.

Arrivammo a Bombay il 12 giugno e subito dopo c'installammo col nostro completo laboratorio di bacteriologia, in una sala assegnataci nel *Municipal Bulding*. L'esperienze sugli animali grossi si fecero nel *Parel Veterinary College*, col concorso e aiuto degli assistenti di quella scuola.

Noi arrivammo a Bombay al principio del monzone, mentre, contro ogni aspettativa, l'epidemia appariva in questa città in lento decrescimento: poichè si riteneva generalmente che il caldo e l'enorme umidità mantenuta dalla ug-

giosa stagione delle piogge torrenziali, dovessero favorire lo sviluppo e la propagazione del microbo specifico. Però verso la fine di giugno, vista la enorme mortalità giornaliera, di gran lunga superiore a quella normale, che non trovava giustificazione nemmeno coll'incipiente epidemia colerica, si istituirono da parte dell'autorità le visite mediche di casa in casa, e si scoprirono non pochi casi gravi rimasti nascosti. E quasi contemporaneamente, come risulta dalle pubblicazioni ufficiali nella Gazzetta di Bombay, risorse veemente la peste in parecchi altri distretti della Presidenza, come a Poona, Urania e Lanwoli, ove venne localizzata per le energiche misure prese dal Comitato contro la peste (*Plague Committé*, istituito col *The Epidemic Diseases Act. 7 Maggio 1897*).

È utile ricordare che ad onta che, come si è detto, nelle prime settimane, dalle statistiche ufficiali risultasse il sensibile decrescimento dell'epidemia, la mortalità fra i colpiti di peste era ancor sempre altissima: la solita. Per noi il materiale era già allora abbondante, e il nostro compito veniva relativamente facilitato dal fatto che il frazionamento dei malati nei vari ospedali, era a paragone del periodo antecedente, limitato assai, venendo essi quasi tutti accolti nell'Artur Road Hospital.

Per il forte appoggio avuto dal presidente del *Plague Committé*, general Gatacre, che disponeva di pieni poteri in tutta la Presidenza di Bombay, il nostro lavoro reso penoso dalla stagione e dalle enormi distanze, venne alquanto alleggerito. Così pure dobbiamo molto ai colleghi dott. Weir, capo del Health Department, al dott. Gerson De Cunha, al dott. Choksey, direttore dell'Artur Road Hospital, e ai suoi assistenti indigeni, ai loro medici militari di Poona capitani dott. Jones-Lloyd, e dott. Jackson e ai assistenti. Le osservazioni cliniche da me fatte, saranno oggetto di una Nota a parte; riferisco ora sulle *vaccinazioni preventive*.

1. Il nostro vaccino, se ricavato, col metodo descritto in altre pubblicazioni (Vedi Resoconti dell'Accad. di Torino 1897), da colture recenti e virulenti, si conserva, raccolto con ogni cautela, sterile e attivo anche per qualche mese.

2. Allo stato secco non perde le sue proprietà, si mantiene sterile e offre anch'esso il grande vantaggio di permettere la dosatura della sostanza attiva, per ogni singola inoculazione.

Se anche altri metodi, usando colture attenuate e virulenti, dimostrassero di conferire l'immunità attiva, senza produrre alcun danno al vaccinato, essi non potrebbero concedere la possibilità di stabilire con precisione la quantità del *vaccino attivo* usato.

3. Dopo aver stabilito con parecchie osservazioni che l'uomo sano risponde alla vaccinazione sotto la cute del braccio, con fenomeni locali e generali, che sono sempre leggieri, se anche di differente intensità a seconda della costituzione del vaccinato, pensammo di provare sull'uomo il valore preventivo del vaccino.

Attendemmo l'occasione che per essere decisiva non si doveva presentare che sotto una forma; la peste avrebbe dovute scoppiare veemente in un agglomerato, però non troppo piccolo, di persone, conviventi fra loro in intimo contatto, e passibili di un rigoroso isolamento. E in tal caso la vaccinazione dovrebbe esser estesa a tutti, nel periodo ascendente dell'epidemia, tenendo poi i vaccinati a contatto dei malati: cosa invero molto facile in India dove i malati vengono assistiti dai congiunti.

Di questi esempi, non ne annovera finora la storia della vaccinazione contro la peste. E di nessun valore sarebbero state per noi le vaccinazioni fatte in persone, che per condizioni sociali ottime di rado ammalano; o nella popolazione vagabonda e povera la cui sorte rimane ignota, o in quella non agiata più civile e resistente alla peste, che rimane per ultima nei paesi infetti, mentre i più sono fuggiti o morti. E nessun valore hanno, secondo me, questi tentativi, poichè non si fanno poi, nè negli Ospedali, nè altrove, dei rilievi per conoscere se i colpiti furono precedentemente vaccinati.

A noi si presentò a Poona una occasione veramente propizia, quando scoppiò la peste fra i soldati nativi e le loro famiglie del 2° regg. Lancieri di Bombay, ma per ragioni politiche e d'ordine morale in rapporto ai sentimenti religiosi di quella gente, l'autorità non potè assecondare il nostro desiderio di vaccinarli mentre si concesse di trattare i malati col siero.

Molti ritengono che questo problema della vaccinazione preventiva possa venir risolto anche cogli sperimenti sulle scimmie, vista la sensibilità di questo all'azione del bacillo specifico, e l'analogia di decorso morboso e di quadro anatomico fra questi animali e l'uomo. Per ciò consigliai ai dott. Galeotti e Malenchini d'intraprendere delle ricerche sistematiche, *per vedere se il nostro vaccino conferisce anche alle scimmie, come ai ratti, l'immunità attiva.*

Questi studi vennero eseguiti nel *Parel Veterinary College*, dove sperimentarono anche altri medici accorsi in quel tempo a Bombay, coll'assistenza del personale della Scuola. Le scimmie sane vennero fornite dal *Veterinary College* e in parte dal mercato.

Nelle piccole scimmie grigie, che meglio si prestano all'esperienza perchè sensibili anche a minime quantità di bacilli pestiferi, si provocò la *forma bubbonica* coll'inoculazione sotto cute di  $\frac{1}{4}$  e meno di ansa di platino di coltura virulenta, stemprata nell'acqua dist. (1 c. c.); e quella *setticemica*, più grave, con minor quantità di coltura iniettata nella cavità peritoneale. Nel 1° caso si ha uno o più bubboni in prossimità al punto d'inoculazione; la febbre è alta, la lingua è coperta di uno strato madreperlaceo, le congiuntive iniettate, e la morte avviene al più tardi nella 4ª giornata. Nella setticemia la morte avviene dopo 24 fino 48 ore. Le vaccinazioni si fecero sotto la cute del braccio o della coscia, con *sostanza secca* o con quella fresca preparata a Bombay da colture virulenti, avute dal dott. Stricker,

membro della Commissione tedesca, o ricavate dal dott. Malenchini direttamente dal cadavere umano.

Le prove d'infezione vanno fatte soltanto qualche giorno dopo che le scimmie, come avviene anche nei ratti, si sono rimesse dagli effetti della vaccinazione ed hanno sicuramente acquisita l'immunità. Gli animali vaccinati e quelli testimoni vennero infettati nella cavità peritoneale, o sottocute con colture sicuramente virulente, prendendo per i vaccinati una quantità di coltura corrispondente a una grande ansa di platino, stemperata nell'acqua dist. (1 c. c).

Riassumiamo i risultati. Sei scimmie vennero vaccinate in 3 volte ed ebbero in tutto 1,705 a 1,41 centigr. di sostanza attiva; due scimmie ebbero in due volte 1,41 centigr. di sostanza attiva; due scimmie vennero trattate in una sola vaccinazione con 1,88 centigr. Uno di questi due animali morì poco dopo, l'altro si rimise; e queste due ultime esperienze ci dimostrano la forte tossicità della sostanza. Noi abbiamo colle ripetute vaccinazioni in un solo animale usate forti dosi complessive, il che non è neppure necessario per ottenere una salda immunità. Tutti gli animali vaccinati sopportarono l'inoculazione, per le due vie più volte citate, di una grande quantità di coltura, di cui la decima parte è bastante per provocare per via peritoneale la morte delle scimmie non vaccinate; qualche animale vaccinato presentò una semplice e passeggera insignificante reazione locale dovuta alla grande quantità del materiale inoculato sottocute. In due casi l'infezione si fece dopo 18, in un caso dopo 24, in tre scimmie dopo 22 giorni, in altre tre dopo 16 giorni dall'ultima vaccinazione.

La durata massima dell'immunità, in seguito alla vaccinazione, si potrà stabilire da noi fra qualche mese su scimmie ormai vaccinate.

È inutile ricordare altri sperimenti sulle scimmie fatti a scopo di stabilire la virulenza delle colture, la tossicità del vaccino ecc.; o rammentare che ogni infezione delle scimmie vaccinate era accompagnata da quelle di riprova su animali della stessa specie, e per l'identica via. Vista la sensibilità delle scimmie per la peste e data l'affinità filogenetica di questo animale coll'uomo, queste ricerche acquistano un singolare valore.

#### *Esperienze di sieroterapia nelle scimmie.*

Guidato dai criteri esposti poc' anzi, credetti opportuno di pregare i dottori Galeotti e Malenchini di intraprendere delle ricerche sieroterapiche sulle scimmie. Si scelsero per ciò animali non troppo robusti, fra le scimmie grigio le più sensibili, che vennero infettate unicamente per la via peritoneale. Per provare l'efficacia del siero da noi preparato dal cavallo, non si poteva preferire che la forma più grave d'infezione sperimentale.



A quattro scimmie s'iniettò per lo più sotto cute, dopo circa 4 ore dall'infezione, provocata con abbondante e virulenta coltura, ricavata dal cadavere umano, da 5 a 10 c. c. di siero (1), quando i fenomeni morbosi erano ormai indubbiamente manifesti.

A due scimmie ormai malate il siero venne somministrato dopo 5 ore dall'infezione. Contemporaneamente all'iniezione del siero, si fecero colture dal sangue, che riuscirono in cinque animali negative, in una positiva. Delle sei scimmie curate, cinque guarirono rapidamente, una debole oltremodo, dal sangue della quale si ricavò il bacillo, morì. Gli animali testimoni non vaccinati trattati nel modo il più scrupoloso, con minor quantità di materiale di coltura di identica provenienza morirono senza eccezione.

Il siero si dimostrò adunque mezzo efficace per curare nelle scimmie la forma più grave d'infezione, ma esso non può corrispondere quando l'organismo debole di natura e malato, non disponga più di quella forza di riserva che, secondo ogni probabilità trova il suo stimolo nel siero. Resta a vedere fino a qual grado di diffusione dei bacilli nell'organismo il siero è ancor attivo. Per ragioni materiali e locali ciò non ci fu possibile di stabilire.

#### *La sieroterapia nell'uomo.*

La diagnosi clinica della peste a decorso tipico, e epidemia in corso, non offre all'esperto difficoltà. Manifesti i bubboni, la ricerca batteriologica non è necessaria; essa è utile, benchè talvolta incerta, quando quelli non sono ancor visibili, e nelle forme setticemiche in genere. Se in queste l'esame del sangue (colture) è negativo, la coltivazione del liquido estratto, per puntura, dalla milza, dalle pustole cutanee, o da altri tessuti può essere vantaggiosa.

Trattandosi di provare un nuovo medicamento noi operammo in modo da assicurarci, con ogni mezzo, la giustezza della diagnosi.

Il nostro siero, conservato, anche durante il viaggio, in ambienti raffreddati artificialmente, venne a preferenza somministrato ai malati ritenuti gravi (2). Un medico esperto può facilmente stabilire la gravità del caso, e quindi la prognosi, in generale, salvo nei casi leggieri che guariscono da sè, è infausta, come lo dimostra la mortalità a Bombay dove secondo le statistiche ufficiali fino il 1° settembre 1897 su 12796 colpiti ne morirono 10,786 (3). Gravissime sono le forme, con o senza bubboni, con fenomeni di setticemia, e grave è la forma bubbonica a temperatura altissima non re-

(1) Per la preparazione del siero vedi 3ª Nota nel Giornale dell'Accademia medica di Torino, 1897. Per queste ricerche come nelle esperienze sull'uomo venne adoperato il medesimo siero.

(2) La scelta di questi malati venne quasi sempre fatta dagli stessi medici degli ospedali. Le ricerche batteriologiche a scopo diagnostico-clinico vennero eseguite in qualche caso, oltrechè da noi, anche dal prof. Lewin di Pietroburgo.

(3) Dal Bollettino del 1° settembre 1897, pubblicato dal Health Office di Bombay.

mittente, con debolezza cardiaca, con polso frequente dicroto, deliri e profonda apatia, con respirazione frequente senza fenomeni polmonari, tumori della milza, sudori freddi, albume nell'urina, ritenenza d'urina.

È difficile di poter stabilire con precisione il periodo d'incubazione, e il giorno d'inizio della malattia.

Trenta malati di peste vennero curati col siero; di questi ne morirono 4, al più tardi 48 ore dal trattamento; oltre a ciò si somministrò il siero per errore diagnostico e senza effetto, ad un malato di pneumonite da diplococco, il quale morì.

Dei 30 malati 12 avevano bubboni all'inguine, 4 soli alle ascelle, 5 vari bubboni in diverse regioni, 2 all'occipite, 2 all'angolo mascellare, 1 una diffusa infiltrazione periglandolare all'inguine destro, 4 non presentavano bubboni. Morirono due malati con bubboni e setticemia, due con setticemia senza bubboni apparenti.

In singoli casi gravissimi, inoltrati, s'iniettò nella coscia in una sol volta da 40 a 60 cc. di siero; di solito questa dose veniva frazionata e così somministrata in 12 fino 36 ore. Rapido fu il riassorbimento. In nessun caso si videro fenomeni morbosi locali.

Gli effetti del siero sono: abbassamento della temperatura, talvolta colasso leggero; diminuzione del dolore locale, della cefalea, del delirio. In alcun malato si verificò la suppurazione del bubbone, o le frequenti complicazioni secondarie.

Il siero si mostrò efficace anche quando colla puntura si verificarono (mediante colture) i bacilli in organi interni (milza, fegato) o in altri tessuti. Inefficace è il siero quando i bacilli si trovano numerosi nel sangue circolante (setticemia) o nelle forme avanzate, con gravi fenomeni d'intossicazione.

40 cc. di siero iniettati in una sol volta in persone non malate, o in malati di malaria o di pneumonite crupale non hanno alcuna azione.

Queste osservazioni cliniche ricordate per ora qui, colla massima brevità, dimostrano l'efficacia indiscutibile del siero, in una malattia che diede a Bombay circa l'85 % di mortalità.

Dopo questi risultati si avrebbe potuto, disponendo di una ricca fonte di produzione di siero, trattare con esso tutti indistintamente i malati accolti negli ospedali, e così stabilire un confronto fra la precedente mortalità e quella che ne risulta dal nuovo trattamento, benchè questo metodo statistico comparativo, sarebbe, per ragioni che qui non è il caso di esporre, di non facile attuazione in India, e avrebbe perciò un valore scientifico ben relativo.

Allo scopo suddetto avevamo incominciato a immunizzare un cavallo, che dimostrò di tollerare bene dosi di vaccino anche maggiori di quelle usate in altro esperimento, ma, esauriti ormai i fondi di cui disponevamo per vivere in India, dovemmo con dolore declinare gli aiuti materiali offertici dal dott. Weir capo dell'Ufficio sanitario, per questa costosa produzione di siero, e far ritorno in Italia dopo due mesi di soggiorno in India durante la peggiore delle stagioni.