

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCXCVII.
1900

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME IX.

2° SEMESTRE.



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1900

tondi, con blocchetto centrale di pigmento e vermicoli che presentavano granuli sparsi di pigmento. Anche in altre osservazioni ho riscontrato sempre i vermicoli pigmentati, fatti questi che concordano con l'opinione del prof. Grassi (vedasi opera citata a pag. 131) e sono contro quella del Koch, il quale crede che il vermicolo esca fuori dal corpo rotondo, lasciando indietro tutto il suo pigmento e che più tardi formi nuovo pigmento.

Ebbi anche a notare che nelle zanzare, le quali avevano succhiato sangue, ad onta della non avvenuta fecondazione, le uova andavano avanti a svilupparsi sino a raggiungere l'aspetto di uova mature; mentre in quelle che non succhiavano sangue, le uova non accennavano a svilupparsi, restando in quello stato di sviluppo che si osserva nelle zanzare ibernanti. Forse queste non hanno mai succhiato sangue.

Ciò proverebbe che lo sviluppo e la maturazione delle uova non avviene se prima l'insetto non si è nutrito di sangue. Però le ovaie delle femmine non fecondate non raggiunsero mai il grande sviluppo che si osserva in quelle zanzare che sono prossime a deporre le uova, nè queste furono mai deposte neppure da zanzare che avevano punto da tredici giorni e ne contavano diciannove di vita come insetto perfetto.

Ho poi ragione di ritenere che il sangue succhiato venisse digerito e servisse alla nutrizione dell'insetto, perchè alcuni *Culex*, dopo che ebbero punto, furono tenuti più giorni senza nutrimento e vissero benissimo.

Concludendo: L'ipotesi del Ross non risponde alla realtà dei fatti, anzi è con questi in contraddizione ed insieme con la ipotesi principale cadono quindi anche le altre argomentazioni ad essa attinenti. Così le femmine di *Culex pipiens* non fecondate s'infettano come quelle fecondate; si nutrono come queste del sangue ingerito e presentano ben presto le uova ad un grado di sviluppo molto avanzato.

Patologia. — *Sul fenomeno dell'agglutinazione nel sangue dei malarici* ⁽¹⁾. I Nota dei dott. D. LO MONACO e L. PANICHI, presentata dal Socio LUCIANI.

Quando in un preparato di sangue malarico si fissa nel campo del microscopio un eritrocito parassitario, e si deposita sul margine del vetrino coproggetti una goccia di una soluzione di chinina, si osserva che, se questa ha un'adeguata concentrazione, il parassita, dopo qualche tempo che il liquido è penetrato nel preparato e si sono manifestate le correnti, subisce una serie di modificazioni e finisce col distaccarsi dal globulo rosso e con l'assumere la forma rotonda o di contrazione.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia di Roma.

La scoperta di questo fenomeno non si deve al caso, ma alla cura che abbiamo avuto, prima di cominciare a sperimentare, di calcolare il grado di concentrazione della soluzione di chinina da noi adoperata, mettendola in rapporto con la dose di alcaloide che suole prescrivarsi con vantaggio nelle febbri malariche. Gli altri autori infatti, che prima di noi si servirono del medesimo metodo, allo scopo di seguire *in vitro* l'azione della chinina sui parassiti malarici, non videro altro se non che essi si contraevano nella posizione in cui si trovavano, rimanendo cioè aderenti al globulo rosso. Hanno quindi i nostri predecessori osservato solamente quella fase dell'azione della chinina sui parassiti malarici che si ottiene quando questo alcaloide arriva a contatto di essi in soluzione molto concentrata.

Utilizzando il fenomeno già descritto, in quattro note successive (1), oltre a determinare le leggi che lo regolano e a stabilire la dose razionale di chinina sufficiente a produrre la guarigione dei vari tipi febbrili della malaria, abbiamo studiato un'altra interessante proprietà che presentano i parassiti malarici. Si notò da noi che, seguendo pari passo col decorso della febbre la resistenza dei parassiti alla chinina, determinata dal grado maggiore o minore di concentrazione della soluzione dell'alcaloide che occorre per farli distaccare dal parassita, nel periodo immediatamente precedente l'accesso febbrile, come pure durante l'accesso, per produrre il fenomeno su citato, occorre diluire gradatamente le soluzioni chininiche, mentre dovevansi mano mano renderle di titolo più forte a misura che l'accesso febbrile declinava e tornava l'apiressia. Era questa la prova più evidente dell'attenuazione che i parassiti malarici subiscono nell'accesso febbrile: attenuazione che non poteva spiegarsi se non ammettendo che nell'organismo malarico avviene una produzione di sostanze antiparassitarie, le quali o sono molto labili agendo solamente nella piresia e scomparendo nel periodo apirettico, o si rinforzano solo durante l'accesso febbrile, neutralizzando e sovrapponendosi alle sostanze virulenti di azione opposta la cui presenza non è stata da nessuno messa in evidenza.

Per spiegare possibilmente il meccanismo di produzione delle sostanze antiparassitarie, s'imponeva prima lo studio della natura e delle proprietà di esse. A tal uopo ci proponevamo di usufruire dei metodi (che avremmo all'occorrenza modificati) di cui si sono serviti Pfeiffer, Metchnikoff, Bordet e altri per lo studio delle sostanze battericide; anche allo scopo di vedere quali punti di contatto vi fossero tra queste due specie di sostanze per i loro effetti tanto vicine.

Appena però ci siamo messi all'opera, e abbiamo iniziato le prime ricerche, siamo stati obbligati ad interromperle, perchè un fenomeno nuovo, finora

(1) Rendiconti Acc. Lincei 1899 e 1900.

mai notato dai trattatisti e dagli studiosi della malaria, ci costrinse a rigettare il metodo di esperimento di cui volevamo servirci.

Può il siero o il sangue di un malarico rinforzare o diminuire la resistenza dei parassiti alla chinina di un altro malarico? Questo era il primo quesito che volevamo risolvere col seguente processo: Dosare prima la resistenza alla chinina delle forme parassitarie di una data fase di sviluppo nel sangue di un ammalato di malaria, e ripetere la medesima esperienza, aggiungendo una goccia del sangue già dosato con un'altra goccia di sangue di un secondo malarico. Prendendo la seconda goccia ora durante

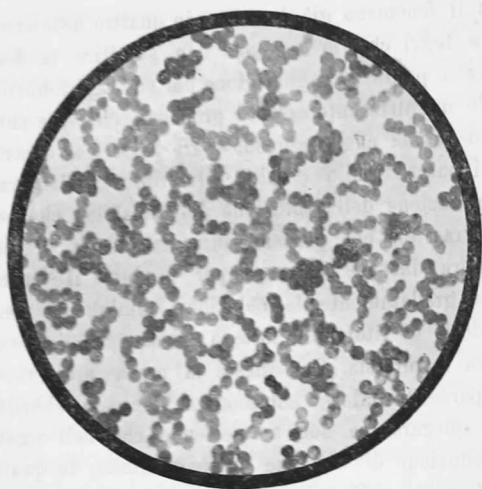


FIG. 1.

l'accesso febbrile, ora durante l'apiressia, e facendo tutte le possibili mescolanze di sangui malarici nei vari tipi febbrili, si poteva dedurre, dal diminuire o dall'aumentare della resistenza alla chinina delle forme parassitarie prese in esame, se l'azione delle due sostanze virulenti era suscettibile di sommarsi.

L'esperienza, come abbiamo detto, non riuscì, poichè quando una goccia di sangue malarico si mescola con un'altra goccia di sangue malarico tratta da un altro individuo, guardando al microscopio il preparato fatto, si resta sorpresi nel vedere che gli eritrociti sono più o meno fortemente agglutinati.

Nei preparati microscopici di sangue normale, fatti con cattiva tecnica, si possono osservare aggruppamenti di eritrociti; ma questi differiscono per molti caratteri da quelli che si ottengono col mescolare due sangui malarici.

Nel primo caso i globuli tra loro uniti, per lo più sono disposti a pila, e tra due aggruppamenti si trovano sempre degli eritrociti isolati e nuotanti nel liquido, come pure si assiste spesso, guardando al microscopio, al distaccarsi di uno o più globuli dalla massa principale; nel secondo caso invece, come si vede nella figura 1, gli elementi corpuscolari sono talmente impastati fra loro che di molti non si può più riconoscere la forma; nessun globulo libero inoltre si trova tra i vari ammassi e nessun globulo di un ammasso si vede mai, durante l'osservazione anche prolungata, lasciare il proprio posto.

Il fenomeno da noi trovato quindi ci rivelava una nuova proprietà del sangue malarico, proprietà che aumenta i punti di contatto tra malaria e malattie infettive batteriche, e che apriva a noi un campo nuovo ed esteso di ricerche per lo studio di questa malattia.

È noto che i sieri normali e i sieri di animali immunizzati contengono oltre le alessine e le *sostanze battericide* e indipendentemente da esse, sostanze dette *agglutinanti* che hanno, come indica il loro nome, la proprietà di riunire in masse le cellule sospese nei liquidi organici eterogenei o nei liquidi che son serviti come mezzo di cultura dei batteri. Sono state distinte le *agglutinine microbiche* e le *agglutinine globulari*, ma nessuno però finora aveva notato che il sangue malarico avesse la proprietà di agglutinare il sangue normale o il sangue di un altro malarico, e, per quanto noi sappiamo, l'agglutinamento globulare nell'uomo nelle infezioni non è stato mai studiato nè utilizzato come sintomo diagnostico.

Volendo ora riportare brevemente i risultati delle nostre esperienze, premettiamo che il sangue o il siero di uomo normale non agglutina mai i globuli rossi di un altro uomo normale. Il sangue o il siero invece dei malarici, qualunque sia il tipo febbrile di cui essi sono affetti, agglutina gli eritrociti dell'uomo normale. Medesimamente il sangue o il siero di un *terzanario primaverile* agglutina i globuli di un altro terzanario; il sangue o il siero di un *quartanario* agglutina i globuli del sangue di un altro quartanario; e il sangue o il siero di un malarico *estivo* gli eritrociti di un altro ammalato affetto dalla medesima infezione. — Inoltre una goccia di sangue o di siero malarico, mescolato con una goccia di sangue di un altro malarico, contenente parassiti di specie diversa dal primo, presenta sempre il fenomeno dell'agglutinazione. In base a queste nostre osservazioni si ricava dunque che nell'infezione malarica si producono costantemente sostanze agglutinanti o agglutinine che dir si vogliano, la natura delle quali ci è del tutto ignota. Sorge quindi naturale l'opportunità di ricercare le modalità del fenomeno, vale a dire i rapporti tra le agglutinine e l'infezione nei vari tipi febbrili e nei vari periodi del ciclo parassitario, l'influenza infine che la chinina esercita su di esse. Per rendere più facile la tecnica, nelle esperienze che seguono, invece del siero malarico, abbiamo sempre adoprato il

sangue ottenuto con la puntura in un dito, e non ci siamo per ora preoccupati di studiare se e in che grado oltre le agglutinine da cui dipende la proprietà agglutinante, il sangue o il siero malarico contenga anche sostanze emolitiche o globulicide.

Il grado di agglutinazione del sangue malarico è stato determinato col metodo della *diluzione* che brevemente descriveremo. Si versano in una serie di vetrini di orologio delle gocce di soluzione di cloruro sodico al 0,90 % in quantità graduale: nel 1° vetrino una goccia, nel 2° vetrino tre gocce, nel 3° cinque gocce e così di seguito. Si trae poi con una pipetta affilata il sangue proveniente da una buona puntura fatta sul polpastrello di un dito del malarico preso in esame, e se ne deposita subito una goccia in ciascuno dei vetrini preparati, avendo cura di agitare il miscuglio rapidamente con una sottile bacchettina di vetro. Per mezzo di questa si porta dopo una goccia del miscuglio in un vetrino portoggetti, e vi si lascia cadere al di sopra una goccia di sangue d'individuo normale ottenuta con la solita puntura. Trascorsi pochi secondi, con un vetrino coprogetti si comprimono le due gocce fortemente (in guisa da ottenere un solo strato di corpuscoli), e si osserva al microscopio. — Allora si nota che, mentre nei preparati fatti col sangue malarico non o poco diluito, gli ammassi globulari comprendono un numero grande di elementi figurati, negli altri fatti con sangue molto diluito gli ammassi sono formati da pochi globuli, finchè si arriva, procedendo nella serie, a quel preparato in cui gli eritrociti si rinvengono divisi uno dall'altro. Come termine fisso di confronto dalla capacità agglutinante del sangue nelle nostre esperienze abbiamo sempre ritenuto quel preparato in cui si trovano ammassi costituiti da 5-6 globuli rossi. Quando p. e. questo fatto si avvera nel preparato ottenuto con il sangue preso dal vetro di orologio nel quale avevamo aggiunte sette gocce di soluzione normale di cloruro sodico, ne ricaviamo la conseguenza che il sangue del nostro ammalato nel momento dell'esplorazione agglutina a otto.

Servendoci del metodo già descritto abbiamo dosato quotidianamente la capacità agglutinante del sangue in moltissimi malarici, e abbiamo ottenuto i seguenti risultati:

Negli ammalati di malaria non ancora chinizzati, la quantità di agglutinine è molto grande, perchè occorre diluire la goccia del loro sangue con 12-14-16 gocce di soluzione fisiologica per raggiungere il termine di confronto. Quest'alto potere agglutinante si conserva pressochè costante, e comincia a diminuire solo dopo la somministrazione della chinina. È utile avvertire però che la presenza di questa nel sangue non ha alcuna influenza diretta sul fenomeno. Infatti il sangue d'individuo sano a cui abbiamo fatto per più di una settimana ingerire un grammo di chinina al giorno, non ha mai agglutinato, quando si mescolava con sangue di altro individuo normale. Se invece, volendo dosare la capacità agglutinante di un sangue malarico preso

in qualunque periodo della malattia, anche quando la febbre è finita e i parassiti sono scomparsi, si diluisce questo sangue con soluzione fisiologica chinizzata (gr. 0,10 di solfato di chinina %), allora il fenomeno non si ottiene più. Questo fatto molto importante merita di essere studiato a parte, e per ora, limitandoci alla sola constatazione di esso, non crediamo opportuno di emettere delle ipotesi per spiegare il meccanismo di questa azione. Certo si è che il nuovo fenomeno sembra specifico, inquantochè altri alcaloidi non impediscono il manifestarsi dell'agglutinazione.

Ritornando ora alla proprietà agglutinante del sangue dei malarici agglungiamo che essa non presenta e non segue le oscillazioni che si osservano nella resistenza dei parassiti alla chinina, resistenza che, come sappiamo, è massima nel periodo apirettico e minima durante l'accesso febbrile.

Negli ammalati malarici ricoverati nell'ospedale S. Spirito di Roma il decorso della capacità agglutinante è sempre rappresentato da una curva che va mano mano abbassandosi dopo cominciata la cura specifica. Questa curva discendente non arriva mai all'ascissa, l'agglutinamento è sempre dimostrabile quando già la febbre è scomparsa, quando i parassiti più non si riscontrano nel sangue periferico, e quando già l'ammalato, avendo ricuperato le forze, lascia l'ospedale.

Date queste condizioni, non ci era possibile di costruire la curva intera della capacità agglutinante, della quale ci mancavano la fase ascendente e l'estremo della fase discendente. A nessuno sfuggirà l'importanza che per noi assumeva questa ricerca: la prima parte della curva doveva mettere in evidenza se agglutinine si producono durante il periodo d'incubazione della malaria, e se tra il grado della capacità agglutinante e il sopravvenire del primo accesso febbrile vi fosse un rapporto costante. L'ultima fase poi della curva dell'agglutinamento doveva servirci per spiegare se la scomparsa delle agglutinine dal sangue coincideva con la completa guarigione dell'infezione. Per risolvere questi problemi non c'era altra via se non quella di produrre l'infezione artificiale mercè iniezione di sangue malarico. A queste esperienze si prestarono due ammalati cronici degenti all'ospedale, i quali mai avevano sofferto di malaria, e il cui sangue non agglutinava il sangue di altro individuo sano. In questa Nota riferiremo solamente la prima di queste esperienze, riservandoci di pubblicare la seconda in una Nota successiva. Al primo ammalato abbiamo iniettato 1cc. di sangue malarico preso da un individuo affetto da febbre terzana estivo-autunnale, e i risultati ottenuti con questa esperienza sono rappresentati dai diagrammi disegnati nella seguente figura.

In essa si osserva che l'agglutinamento (A) comincia a manifestarsi dopo sei giorni dall'iniezione di sangue malarico (fatta il 7 ottobre del corrente anno), quando ancora nessun fenomeno dava indizio della infezione. L'intensità della capacità agglutinante nei giorni successivi aumenta, e raggiunge una notevole altezza, quando ancora la temperatura (T) è normale,

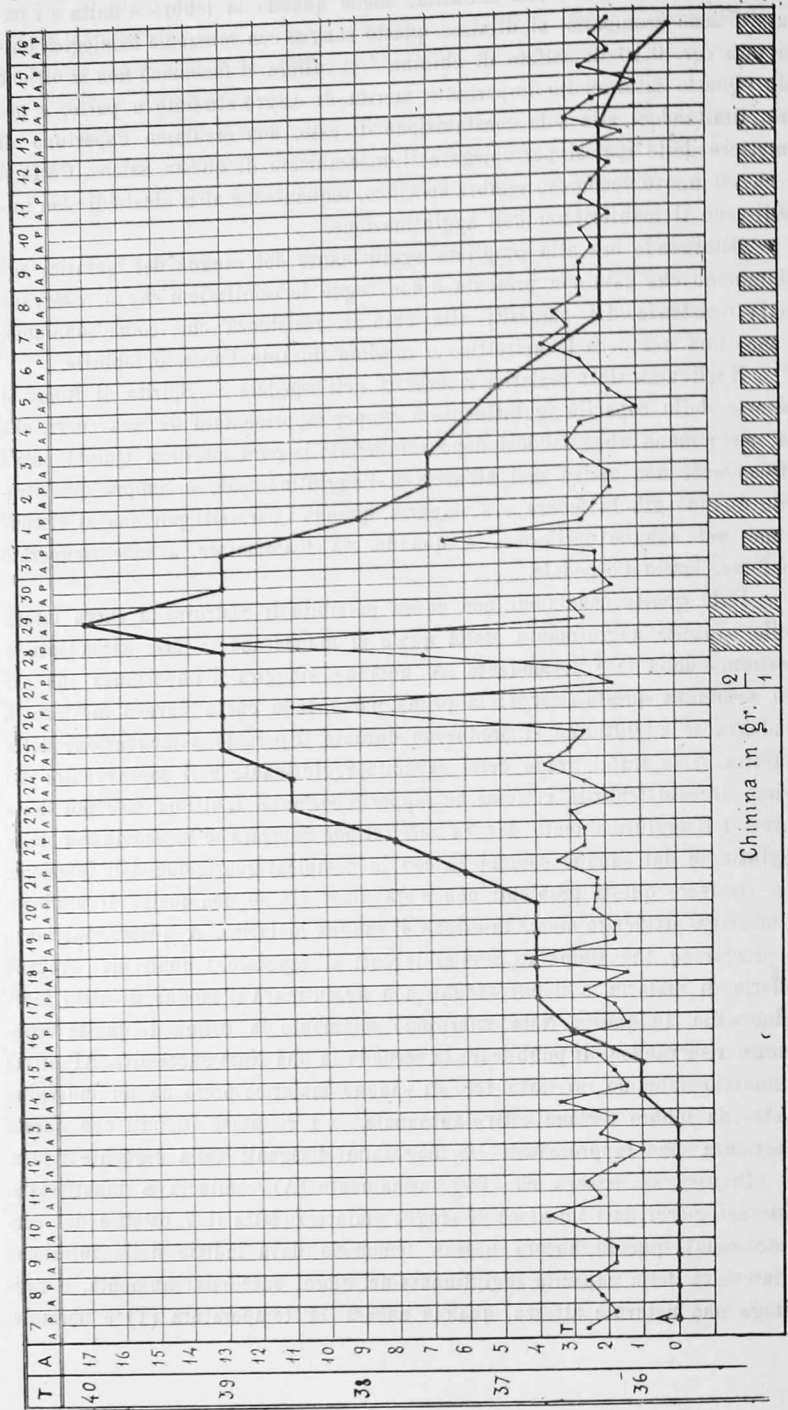


FIG. 2.

e quando ancora non si vedevano parassiti nel sangue dell'individuo infettato. Il primo accesso febbrile coincide col titolo tredici della diluizione del sangue in cui avviene l'agglutinamento, il quale raggiunge il massimo nel giorno che segue il cessare del secondo accesso febbrile, quando cioè erano già stati somministrati i primi due grammi di chinina, e in coincidenza del primo reperto dei parassiti malarici nel sangue. Cessata la febbre, la capa-

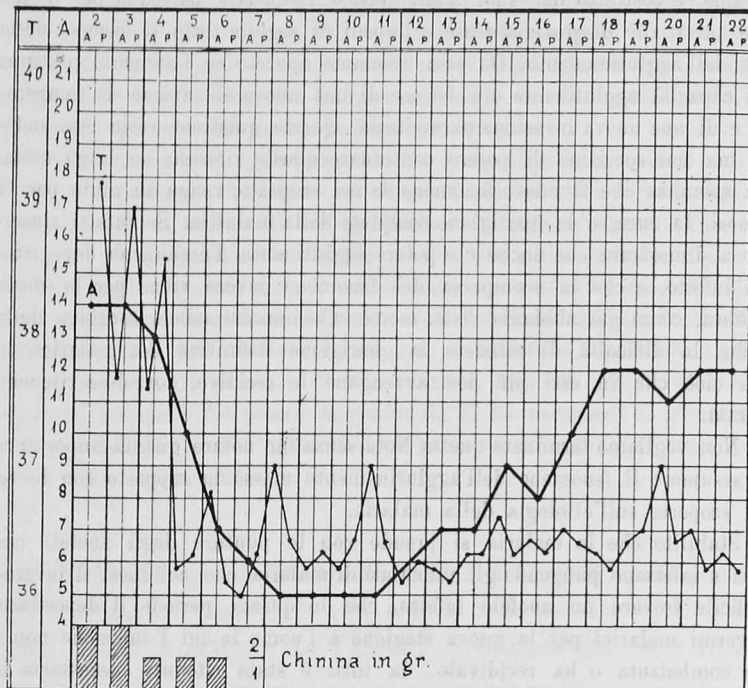


FIG. 3.

cià agglutinante va mano mano attenuandosi, e scompare dopo sedici giorni dal terzo leggero accesso febbrile. D'allora in poi il sangue del nostro ammalato non ha più presentato il fenomeno dell'agglutinamento. Questo esame finora sempre negativo, viene ripetuto ogni settimana, e i risultati che otterremo da queste osservazioni saranno riportati nella successiva Nota. Notiamo però che (come si vede nel diagramma) abbiamo sottoposto questo individuo a una lunga cura di chinina, che è stata sospesa appena scompare l'agglutinamento. Crediamo anzi che questo risultato si deve alla continuata cura chininica, poichè limitando la somministrazione dell'alcaloide a soli pochi giorni, l'agglutinamento non solo non scompare, ma dopo un breve periodo può da capo rinforzarsi.

Ciò è reso evidente dalla sopra riportata figura che esprime la capacità agglutinante (A) del sangue di un ammalato, affetto da febbre terzana estivo-autunnale, al quale amministrammo sette grammi di chinina nel periodo di cinque giorni consecutivi. Per effetto del medicamento la febbre e i parassiti scomparvero, ma la capacità agglutinante (A) dopo essersi abbassata, si rialzò, senza che durante questo innalzamento le condizioni di salute del malato accennassero a peggiorare. Egli anzi, seccato per le continue punture che gli facevamo, e costretto dai suoi affari, lasciò l'ospedale partendo per il suo paese natio. Ciò disgraziatamente c'impedì di seguire tutto il decorso della curva dell'agglutinamento. Da essa avremmo appreso se l'aumento postumo della capacità agglutinante era foriero di una nuova elevazione di temperatura e di una nuova invasione parassitaria. Questa quistione resta così indecisa, ma noi speriamo di potere continuare queste ricerche su larga scala, nella speranza che il nuovo fenomeno da noi scoperto, venga in aiuto per la diagnosi, la cura, e la guarigione completa della malattia. Se infatti riusciremo a dimostrare che finchè c'è potere agglutinante, l'organismo deve ritenersi infetto, e che la scomparsa del fenomeno invece viene per lo meno facilitata, come già abbiamo visto, mercè la somministrazione continua della chinina, la difficoltà di ottenere la guarigione definitiva dei malarici, in guisa cioè che in essi più non avvengano le recidive, dovrebbe ritenersi superata.

Non vogliamo terminare questa Nota senza far notare quanta importanza può assumere il fenomeno dell'agglutinamento messo in rapporto con le recenti scoperte sull'etiologia della malaria.

Stabilito che la malaria si prende con le punture degli anofeli, che questi s'infettano pungendo gli ammalati di malaria, che nei mesi d'inverno è difficile trovare un anofele infetto, che in questo periodo il depositario dei germi malarici per la nuova stagione è l'uomo in cui l'infezione non è stata combattuta o ha recidivato, da tutti è stata ritenuta necessaria la cura obbligatoria dei malarici nell'epoca in cui le punture degli anofeli non sono pericolose.

Il prof. Grassi nella sua ultima pubblicazione, dopo avere esposto il programma di un'esperienza che si propone di fare allo scopo di rendere immuni gli abitanti di un grande territorio malarico, soggiunge che questa cura profilattica pare più facile di quel che non sia. Per lui, e a ragione, il gran scoglio su cui urtiamo si è che, secondo le sue esperienze, i *malarici recidivano nonostante che le loro semilune non si sviluppino più negli anofeli*. Nessun sintomo quindi finora possediamo per dichiarare guarito un individuo che non presenta più nel sangue i parassiti malarici, e non ha più elevazioni febbrili di temperatura, potendo questa e quelli ripresentarsi anche dopo più mesi; nè l'indicazione del Grassi di prevenire le recidive con una *settimanale amministrazione di chinina* ci pare sufficiente ad ottenere la guarigione.

Era necessario quindi che altri mezzi d'indagine ci fornisse la scienza per potere distinguere un malarico guarito da un altro che può recidivare. Uno di questi mezzi crediamo di aver trovato nel potere agglutinante che presenta il sangue malarico mescolato a sangue umano normale, o a sangue di animali (es. cavia) che non possiedono potere agglutinante su quello di uomo sano. Questo metodo sperimentale di facilissima esecuzione, che ci auguriamo venga presto accettato non solo dagli studiosi della malaria, ma da tutti i medici pratici, può in date condizioni sostituirsi alla ricerca dei parassiti; per la quale ricerca non solo occorre la lente ad immersione, ma anche una pratica nel fare i preparati e nel saper trovare gli *emosporidi*, mentre per l'agglutinamento basta una lente a debole ingrandimento, e non fa bisogno di conoscere molta tecnica microscopica.

Il fenomeno dell'agglutinamento non è specifico della malaria; noi p. es. l'abbiamo per caso riscontrato nel sangue di un individuo il quale due giorni dopo cominciò a soffrire di febbre tifoidea, e possiamo supporre che questa proprietà sia probabilmente comune a tutte o a molte malattie infettive, ma ciò non toglie che essa riuscirà utilissima nello studio del decorso della malaria e per la cura razionale di essa; anzi dobbiamo aggiungere che in certi ammalati gravi dell'ospedale, in cui non si trovavano i parassiti, e che pur non ostante, per la presenza di altri sintomi, non si poteva escludere la malaria, l'assenza del potere agglutinante ci ha permesso di affermare che l'ammalato non moriva per infezione palustre, ciò che poi venne confermato dalla necropsopia.

Patologia. — *L'azione dei farmaci antiperiodici sul parassita della malaria. Contributo allo studio delle perniciose.* V. Nota dei dott. D. LO MONACO e L. PANICHI, presentata dal Socio LUCIANI.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.

MEMORIE
DA SOTTOPORSI AL GIUDIZIO DI COMMISSIONI.

ODDO G. *Eterificazione per mezzo dei sali inorganici.* Pres. dal Socio PATERNÒ.

CONCORSI A PREMI

Il Presidente MESSADAGLIA rende conto della presentazione fatta a S. M. il RE dall'Ufficio di Presidenza, della pergamena contenente l'indirizzo di omaggio e di felicitazioni votato dall'Accademia; e aggiunge particolari sul