

Moise B. 70 / 10.

10

PROF. VITTORIO VANNI

Nuovi studi sulla Leishmaniosi
in Italia



ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA" - VOL. II, 1943-XXI

Esemplare fuori commercio
la distribuzione agli effetti
leggi.





PROF. VITTORIO VANNI

Nuovi studi sulla Leishmaniosi
in Italia

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA", - VOL. II, 1945-XXI

VITTORIO VANNI

NUOVI STUDI SULLA LEISHMANIOSI
IN ITALIA

È noto come in Italia, oltre alla leishmaniosi viscerale, che si può dire endemica e diffusa alle zone costiere di quasi tutta l'Italia meridionale e insulare, e che ha dato luogo, a suo tempo, ai classici studi delle scuole cliniche di Napoli, Palermo, Messina, Catania, esiste anche, e si è andata anzi diffondendo in questi ultimi anni, la leishmaniosi cutanea. Essa infatti, dopo le prime segnalazioni di casi sporadici in Italia centrale e meridionale, si viene osservando in focolai endemici importanti, come quello del litorale abruzzese, studiato dal Monacelli (1934) e quello studiato da Poggi e Monti nella provincia di Forlì (1939). Altri focolai si osservano sulla costa orientale della Sicilia e in Sardegna, oltre a casi sporadici, descritti da vari autori, in Italia centrale e meridionale.

Fu appunto il focolaio endemico abruzzese che fornì il materiale dei nuovi studi, che condussero ai risultati decisivi e concreti cui sono potuto giungere, grazie all'impulso e all'incoraggiamento del Direttore Generale della Sanità Pubblica, prof. Petraggiani, che ha facilitato il mio compito con la larghezza d'intendimenti scientifici e pratici a tutti ben nota.

È noto come i flebotomi siano stati da tempo incriminati come vettori della leishmaniosi e il *Pblebotomus papatasi* sia stato dimostrato sperimentalmente vettore di leishmaniosi cutanea in Eu-

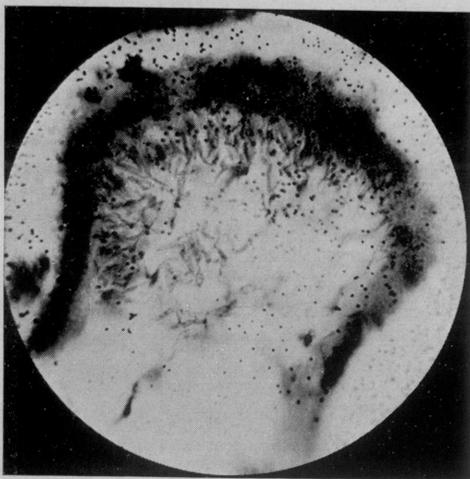


Fig. 1. - *Phlebotomus perfiliewi*, catturato a Roseto degli Abruzzi: sezione trasversale del faringe, dimostrante forme flagellate di *Leishmania tropica*. Fiss. liquido di SCHAUDINN, colo. emallume-eosina (900.1).

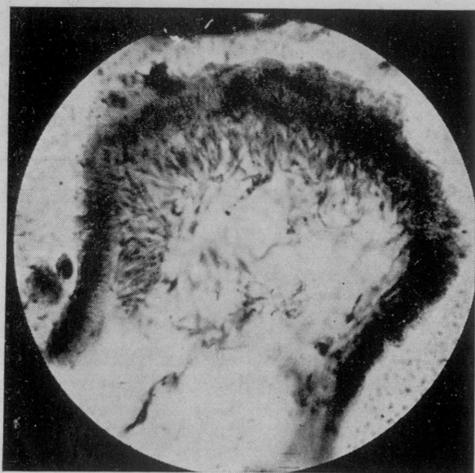


Fig. 2. - Lo stesso preparato della figura precedente, visto in un diverso piano focale. (900.1).

ropa orientale. Ma le prove biologiche non risultarono convincenti, per le lesioni sperimentalmente ottenute, troppo distanti clinicamente e anatomo-patologicamente da quelle umane; le mie osservazioni, invece, tendono a dimostrare in modo sicuro come i flebotomi siano effettivamente gli ospiti intermedi della leishmania, e precisamente che la *Leishmania tropica* in Italia sia trasmessa dalla puntura di *Phlebotomus perfiliewi*. Esporremo qui le osservazioni che autorizzano a trarre tale importante conclusione: basandomi sulla distribuzione geografica della malattia in rapporto con quella degli insetti pungenti l'uomo, e tenendo conto anche delle precedenti ricerche del Corradetti, per mezzo della precipitazione eseguita sul sangue contenuto nei flebotomi di Abruzzo, rivolsi le ricerche sul *Phlebotomus perfiliewi* (*sin. macedonicus*), maggiormente sospettabile, inquantochè la femmina fecondata di tale specie pungeva i bovini e l'uomo, in prevalenza, mentre le altre specie erano

esclusivamente zoofile, nè seguivano la distribuzione geografica della malattia come il *Phlebotomus perfiliewi*. Nel 1937, dopo numerose catture in varie località dell'Abruzzo, ebbi la fortuna di catturare un lotto di flebotomi, appartenente alla specie *Phlebotomus perfiliewi*, in una stalla con buoi, annessa alla casa di un lattaio, a Roseto degli Abruzzi. (In essa abitavano i quattro figli, dai 5 ai 13 anni di età, tutti affetti da leishmaniosi cutanea in atto). Di tale lotto di flebotomi, 200 vennero triturati e il prodotto della triturazione venne inoculato, previa scarificazione, alla radice della coda del ratto bianco, zona recettiva già indicata a suo tempo da Laveran e Mesnil e più recentemente da Parrot, per l'attecchimento sperimentale di *Leishmania tropica*. Altri 1600 vennero fissati in liquido di Schaudinn, inclusi in paraffina e colorati con emallume-eosina. In tre sezioni seriali, dello spessore di 6-10 μ , appartenenti ad un esemplare il cui stomaco era ripieno di

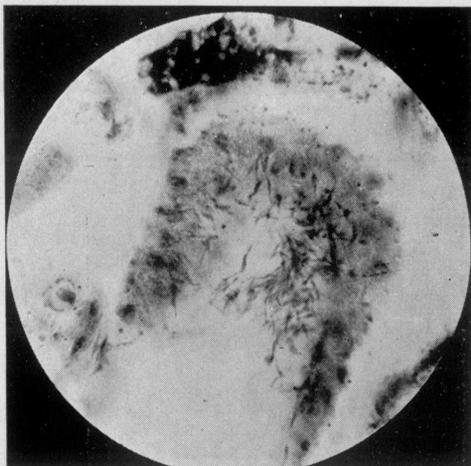


Fig. 3. - Sezione condotta a un livello del faringe diverso dal precedente. (900.1).

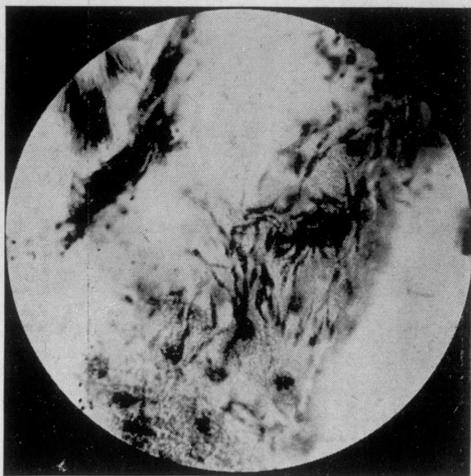


Fig. 4. - Sezione lungitudinale del faringe di *Phlebotomus perfiliewi*, che dimostra le forme flagellate attaccate all'epitelio. (900.1).

sangue, la parete del faringe appariva totalmente tappezzata da flagellati, aventi la morfologia di leptomonas, in piccola parte distaccati e liberi nel lume del faringe stesso (fig. 1, 2, 3, 4). Il mio preparato appariva identico ad un altro del prof. Adler (in possesso del prof. Raffaele) ottenuto da infestazione sperimentale di

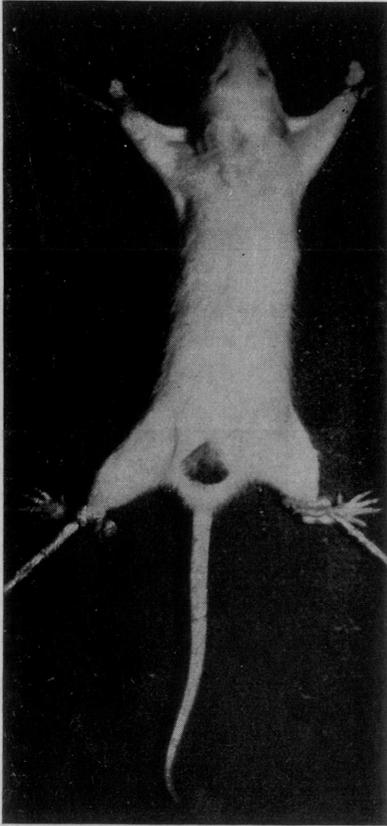


Fig. 5. — Leishmaniosi cutanea sperimentale in ratto bianco alla cui radice della coda fu inoculato 45 giorni prima, il prodotto della triturazione di 200 *Phlebotomus perfiliewi*, catturati a Roseto degli Abruzzi; granuloma ulcerato, contenente leishmanie.

Phlebotomus papatasi, nutrito in Siria su colture di *Leishmania tropica*. L'esperimento cruciale fu ottenuto dalla prova biologica sul ratto; uno di questi, infatti, a circa 40 giorni di distanza dalla inoculazione, presentava, in corrispondenza del punto d'innesto, un nodulo duro-elastico arrossato, aderente alla pelle, il quale, alla puntura esplorativa, forniva una gocciolina siero-ematica con leishmanie tipiche identiche a quelle del Bottone d'Oriente umano (fig. 6); successivamente la lesione venne ad ulcerarsi e a ricoprirsi di una crosta spessa rotondeggiante per un diametro di circa 3 cm. (fig. 5), la quale, distaccata, dava esito ad un liquido vischioso, contenente frustoli di tessuto grasso necrotico; in esso le leishmanie erano venute rarefacendosi, per dar luogo a una invasione polimicrobica, per infezione secondaria cutanea; tali fenomeni erano in tutto sovrapponibili a quelli del Bottone d'Oriente umano; inoltre la biopsia rivelava come la lesione fosse costituita da un granuloma, con leishmanie distribuite nello spessore e alla periferia di

esso. Rimaneva così dimostrato che il *Phlebotomus perfiliewi* era il vettore della leishmania tropica in Italia. Dal complesso delle ricerche eseguite sui due più importanti focolai endemici di leishmaniosi cutanea in Italia, quelli cioè delle provincie di Teramo, Chieti e Forlì, ho potuto osservare che l'altitudine dei luoghi infestati varia dai 10 ai 400 metri, e che sono situati nella zona rurale litoranea: quando sono distanti dal mare stanno in prossimità dei corsi d'acqua. In Abruzzo, infatti, sono colpite le vallate dei fiumi Tordino e Vomano; in Romagna le vallate dei fiumi Conca, Marecchia e Foglia e i paraggi dei torrenti Marano e Riomelo, e ciò con la necessità di un certo grado di umidità necessario alla biologia dell'insetto trasmettitore.

La malattia si osserva costantemente nelle case rurali provviste di stalle al piano terreno e relativa concimaia annessa. Nella concimaia, infatti, ho avuto occasione di osservare esemplari di larve di flebotomo.

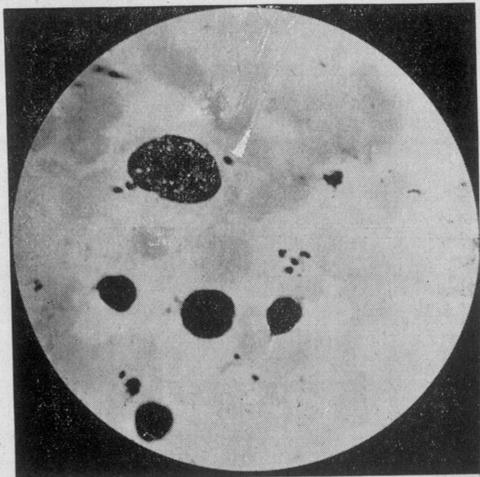


Fig. 6. - Risultato della puntura esplorativa del granuloma ulcerato del ratto della figura precedente. Presenza di *Leishmania tropica*.

Fiss. alcool metilico, colo. GIEMSA.

(900.1).

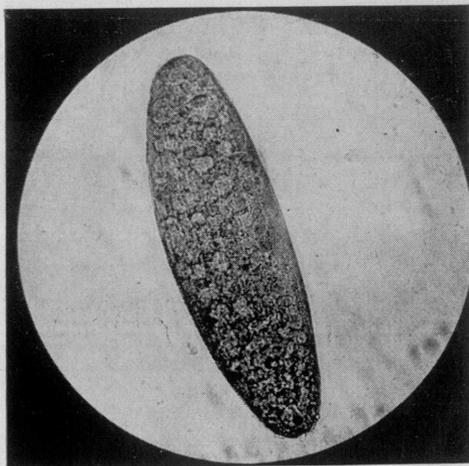


Fig. 7. - Uovo di *Phlebotomus perfiliewi*.

(180.1).

Di giorno era impossibile, nei luoghi infestati, rilevare la presenza dei flebotomi, ma al crepuscolo, e per tutta la durata della notte, si avvertiva la loro presenza con la puntura da cui si era assaliti, soprattutto nell'avvicinarsi alle case rurali; a buio inoltrato essi erano visibili intorno alle sorgenti luminose (fari d'automobile), ciò che permetteva di rendersi conto della loro localizzazione, in

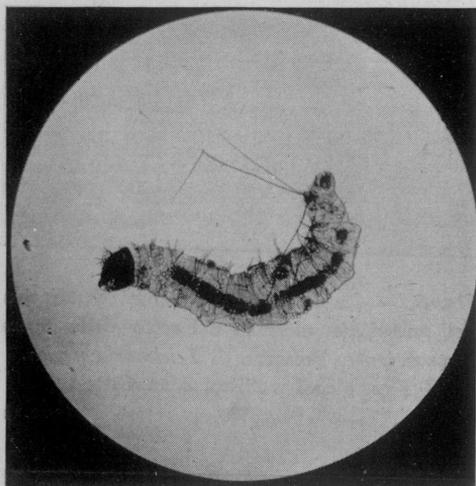


Fig. 8. - Larva di *Pblebotomus perfiliewi*.

(80.1).

quanto che la luce li rivelava solo a un raggio di pochi metri intorno alla casa rurale (ove probabilmente si compie il volo nuziale). Nella abitazione rurale, situata quasi sempre al piano superiore alla stalla, ho potuto costantemente catturare un gran numero di flebotomi, con l'aiuto della luce di una lampada elettrica, da cui venivano quasi paralizzati, e di un catturatore ad aspirazione, in uso per la cattura delle zanzare; si potevano così facilmente prendere sui muri, tanto nelle abitazioni

che nelle stalle. In quest'ultime se ne catturavano in media un centinaio ogni mezz'ora. Ho potuto osservare come i flebotomi abbondassero nelle stalle mal tenute, con muri screpolati e fradici, con legname di rifiuto e lettiere di legno tarlato, contenenti avanzi di paglia e fieno in decomposizione: erano scarsi o assenti nelle stalle ben tenute, con travi e porte verniciate e lettiere verniciate o imbiancate a calce, con muri di recente imbiancati; potei anche osservare come i flebotomi preferissero le stalle con bovini, piuttosto che quelle con equini.

La casa rurale, che nei luoghi infestati è costituita, come si è detto, dall'abitazione con stalla con buoi annessa, ed ha la concimaia a brevissima distanza o addirittura addossata alle pareti esterne,

costituisce il « pabulum » ideale alla biologia del *Plebotomus perfi-
liewi*. La femmina fecondata, infatti, dopo il pasto di sangue com-
piuto sui bovini o sull'uomo, depone le uova (fig. 7) sulla concimaia,
ove si sviluppano completamente attraverso gli stadi larvali
(fig. 8) e ninfale fino all'insetto adulto, il quale, una volta sfarfallato,
compie il volo nuziale per un breve raggio intorno alla casa

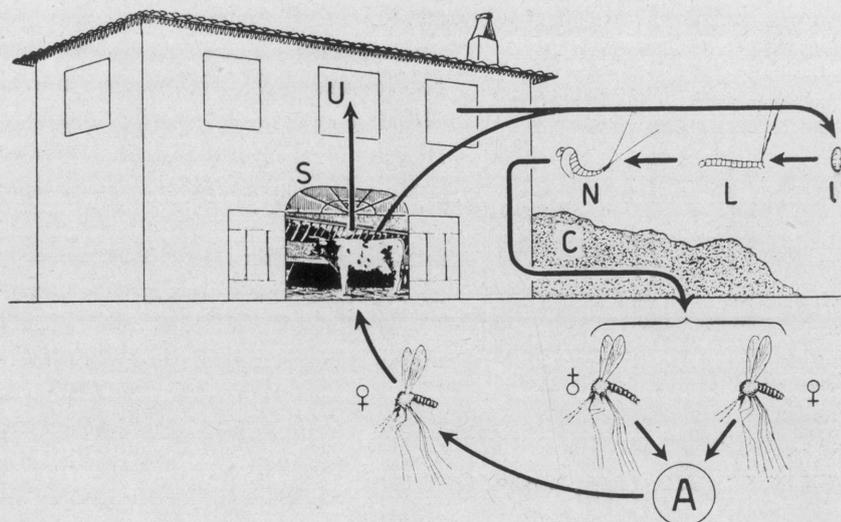


Fig. 9. - Schema dimostrante il ciclo biologico completo del *Plebotomus perfi-
liewi* nella casa rurale. Avvenuto l'accoppiamento (A) la femmina fecondata punge il bue
nella stalla (S), o l'uomo (U) nell'abitazione prospiciente, onde poter maturare le
uova (O) che depone sulla concimaia (C) addossata alla casa rurale, ove si evolvono
gli stadi larvali (L) e ninfale (N), fino allo sfarfallamento dell'insetto adulto (pro-
babilmente le larve e le ninfe divengono ibernanti col calore della fermentazione
sviluppato dalla concimaia stessa).

rurale stessa (fig. 9), come si può osservare facilmente di notte, con
l'aiuto di una sorgente luminosa qualsiasi. È probabile anche,
secondo me, che le larve al quarto stadio o le ninfe divengano ibernanti e sfuggano all'abbassamento di temperatura invernale, utiliz-
zando il calore della fermentazione sviluppato alla superficie
della concimaia stessa. Le ninfe e le larve ibernanti possono inoltre
trasportarsi a distanza col concime stesso e mantenere la specie,
sfarfallando nell'estate successivo.

In base alla biologia del *Phlebotomus perfiliewi* si può adottare il seguente schema di profilassi:

1° *Protezione meccanica*: protezione dei letti con velo impermeabile alla puntura dei flebotomi (a maglie sottilissime).

2° *Lotta contro l'habitat dei flebotomi*: igiene della casa rurale, con distanziamento della concimaia di 80-100 metri, allontanamento delle immondizie, dei rifiuti organici, imbiancamento dei muri delle

stalle, spargimento in esse e intorno alla casa di cloruro di calcio e di calciocianamide, abbinando i mezzi di lotta con quelli usati contro le mosche, (la biologia di esse viene sotto un certo aspetto a coincidere con quella del flebotomo), verniciatura delle lettiere e allontanamento di legname fradicio superfluo, specialmente nelle stalle con bovini, da cui la femmina fecondata di tale flebotomo viene specialmente attirata. Circa il meccanismo di trasmissione è da osservare che questa avviene per rigurgito nella ferita prodotta dalla puntura infettante, solo in determinate condizioni, ben diverse da quelle, ad esempio, dell'anofele, inquanto che questo non ha bisogno, perchè la puntura sia infettante, di compiere un intero pasto di sangue: esso inocula, infatti,

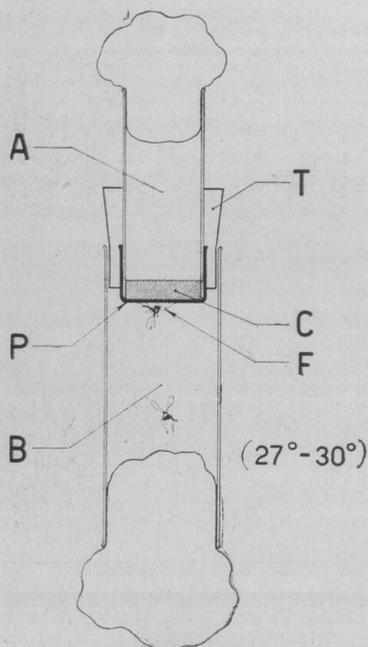


Fig. 10. - (Spiegazione nel testo).

gli sporozoitì già pronti nel canale salivare scavato nell'ipofaringe, non appena abbia infitto questo nella pelle. Invece il flebotomo deve compiere l'intero pasto di sangue, per far sì che le leishmanie contenute nel faringe vengano rigurgitate nella ferita. Tale meccanismo ha una certa analogia con quello di trasmissione del bacillo pestoso da parte della pulce del ratto illustrato da Bacòt; (infatti il bacillo pestoso, che occupa il proventricolo, viene rigurgitato, nella ferita della puntura, dallo stomaco ripieno di sangue).

Ne viene di conseguenza che il meccanismo infettante dei flebotomi richiede un certo tempo, che non si può verificare che *durante il sonno*, essendo in tal caso il paziente immobile per il tempo necessario; di qui l'utilità della protezione meccanica dei letti, di cui abbiamo accennato a proposito della profilassi. La puntura infettante non può verificarsi durante la veglia, per la reazione istintiva causata dalla sensazione fortemente urente della puntura, che non dà, quindi, il tempo necessario al rigurgito infestante: inoltre, nell'ambiente esterno, durante la veglia, la puntura infestante è ostacolata dalla ventilazione, da cui i flebotomi rifuggono, tanto che, durante le giornate di vento, i flebotomi non appaiono affatto all'esterno, e perfino non li ho mai osservati nelle stalle ben ventilate o con riscontro d'aria. Tali ragioni spiegano come durante cinque anni di sopralluoghi in regioni intensamente infestate, tanto io che i miei collaboratori, fummo punti giornalmente dai flebotomi

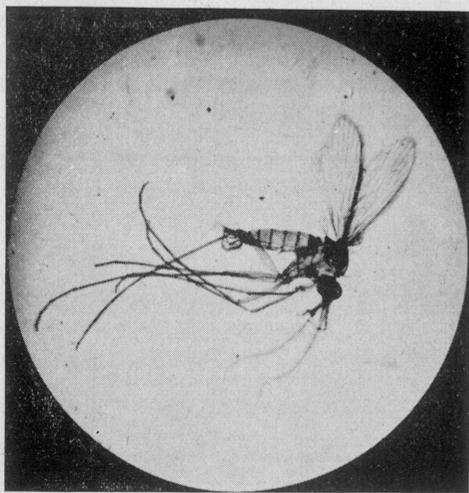


Fig. 11. - *Phlebotomus* ♂ con l'addome terminante con appendici caratteristiche (pinza genitale).

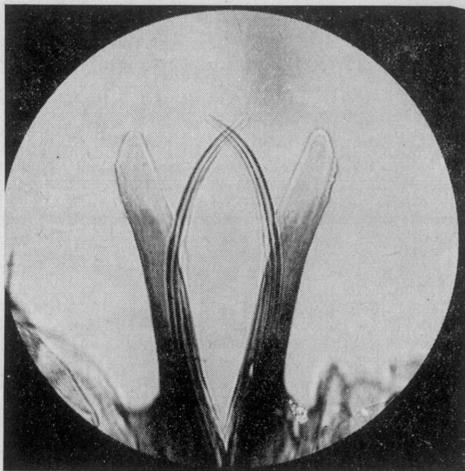


Fig. 12. - *Phlebotomus perfiliewi*: doppio pene a becco di clarino contenente ciascuno il filamento genitale.

(400.1).

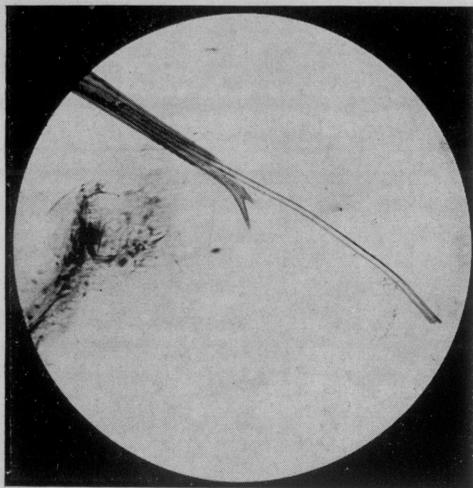


Fig. 13. — *Plebotomus perniciosus*: pene bifido
(attraversato dal filamento genitale).

(400.1).

trasmettitori, senza con-
trarre la malattia.

I risultati delle ricerche
sulla leishmaniosi cutanea
mi hanno indotto ad esten-
dere le ricerche alla leish-
maniosi viscerale, così dif-
fusa in Italia meridionale,
e su cui non esistono ancora
dati sicuri sulla trasmissio-
ne: (anche tali ricerche
hanno subito l'impulso e il
prezioso aiuto del prof. Pe-
tragnani).

Dai lavori della scuola di
Jemma, la quale ha dato il
più alto contributo alla cli-
nica e alla terapia della
leishmaniosi viscerale, per

quello che riguarda la provincia di Napoli, ove ho iniziato le mie
attuali ricerche, si desume come la malattia, primitivamente circo-
scritta alla costa, si vada addentrando anche in regioni collinose
distanti dal mare. Nell'ambulatorio della R. Clinica Pediatrica
di Napoli, diretta dal prof. Auricchio (che vivamente ringrazio
dei dati fornitimi dalla sua larga esperienza) e che ha costituito
nella sua clinica un centro diagnostico terapeutico della malattia
ottimamente organizzato, si può osservare facilmente come i
casi, riguardanti in genere i bambini al di sotto dei due anni, si
vadano attualmente addensando in un focolaio endemico, compreso
fra Torre Annunziata, Boscotrecase, Boscoreale e Torre del Greco.
Meno frequentemente si osservano a Resina, Portici, Sorrento.
I casi accertati e curati nella R. Clinica Pediatrica di Napoli,
dalla fondazione dell'apposito ambulatorio, ammontano a circa
un migliaio; è da notare, però, che un numero abbastanza notevole
sfugge alla statistica, dal momento che i medici pratici non ospeda-
lizzano tutti i malati, una volta introdotti in terapia dei buoni
preparati di antimonio per via intramuscolare (neostibosan e simili)

che rendono facile la cura, rispetto al metodo classico delle iniezioni endovenose di tartaro stibiato nella vena giugulare, che rendeva necessaria la ospedalizzazione. In pratica, quindi, il medico, che nelle regioni colpite osserva in un bambino febbre irregolare chinino-resistente, anemia e splenomegalia, ricorre, senz'altro, alla cura, formulando la diagnosi col criterio *ex juvantibus*, piuttosto che coi dati di una diagnosi etiologica, che richiede una competenza specifica e una speciale attrezzatura.

È da rilevare che i focolai endemici non tendono ad

estendersi, e in uno stesso centro la malattia appare circoscritta ad un gruppo di abitazioni e magari nella stessa strada, ciò che fa pensare al legame della malattia con la presenza di insetti pungenti e più specialmente ai flebotomi, i quali hanno scarso potere di trasportarsi a distanza, inquantochè restano nel luogo ove avviene la riproduzione: come ho dimostrato per il *Phlebotomus perfliewi* in Romagna e in Abruzzo, essa è infatti legata alle condizioni igieniche locali, che unificano, come si è visto, la lotta contro i flebotomi con quella contro le mosche. È, infatti, molto probabile che i flebotomi siano da incriminare della trasmissione anche della *Leishmania donovani*, sia per le osservazioni precedenti di numerosi autori, sia per quelle che verremo esponendo.

Dalla cattura di 5200 flebotomi nelle località con massima morbidità e in altre indenni, ho rilevato che il *Phlebotomus perniciosus* è fortemente prevalente su le altre specie (82 %), il 18 % essendo rappresentato da *Phlebotomus papatasi*. Il primo segue la distribu-

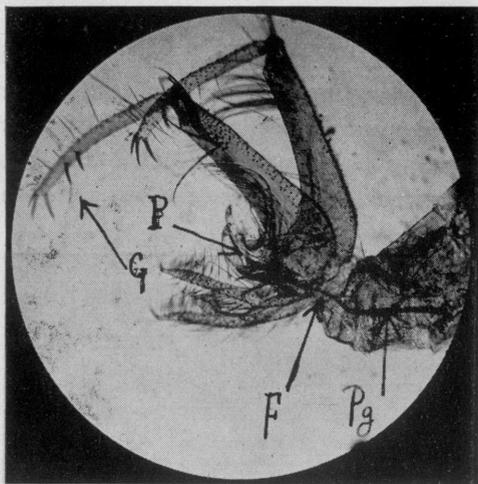


Fig. 14 - *Phlebotomus papatasi* ♂ G: gonapofisi superiore, con spine distribuite in verticilli irregolari. P.; pene breve conico (il pene è riconoscibile per essere attraversato dal filamento genitale F che si origina dalla pompa genitale Pg).
(100.1).

zione geografica della malattia, e con la prova delle precipitine sul sangue contenuto nel tubo digerente ho potuto rilevare che le femmine pungono i bovini e in minore percentuale l'uomo: tale percentuale cresce però negli esemplari catturati nelle abitazioni; il flebotomo abbonda nelle regioni con casi di leishmaniosi di recente insorgenza, e scarseggia altrove: in particolare abbondavano a

Torre Annunziata, Boscotrecase, Boscoreale, e scarseggiavano, ad esempio, a S. Paolo Belsito, località ove la malattia è andata scomparendo.

È interessante notare che in Sicilia, come dimostrarono Adler e Theodor, la distribuzione geografica della leishmaniosi infantile segue esattamente quella del *Phlebotomus perniciosus*, come in India quella del Kala-azar segue quella del *Phlebotomus argentipes*, come la leishmaniosi cutanea in Italia segue quella del *Phlebotomus perfiliewi* e in Siria quella del *Phlebotomus papatasi*.

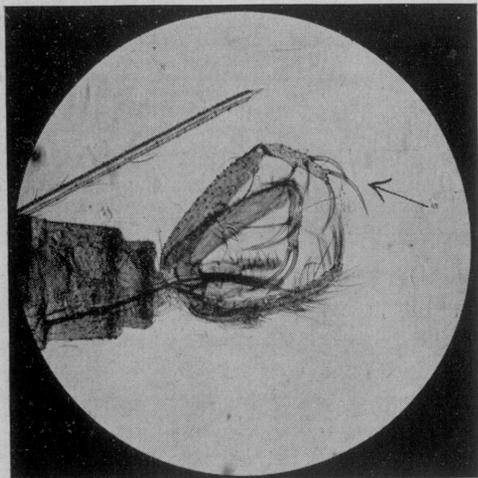


Fig. 15. - *Phlebotomus major*: gonapofisi superiore pentadigitata.

(80.1).

Nelle località endemiche il *Phlebotomus perniciosus* si trova nelle stalle e nelle casi adiacenti: a Boscotrecase, ove attualmente si addensa il maggiore focolaio della malattia, le stalle con buoi sono frammiste all'abitato, come più o meno in tutto il circondario di Torre Annunziata.

2300 esemplari femmina, appartenenti alle specie in questione, sono stati inclusi in paraffina e sezionati in serie per la ricerca di eventuali forme metacicliche di leishmania nel faringe.

Il risultato è stato negativo; ma è da osservare, che data la rarità dei casi di leishmaniosi viscerale rispetto ad altre malattie trasmesse da insetti pungenti (malaria, tripanosomiasi) ed anche

rispetto alla stessa leishmaniosi cutanea in Italia, che il reperto dei flebotomi infettanti di *Leishmania donovani* debba essere logicamente molto più raro: esso andrà ricercato su vastissima scala, con metodi speciali di arricchimento, che mi riprometto di sperimentare nella prossima stagione di comparsa di flebotomi, essendo le presenti ricerche state forzatamente interrotte dalle prime piogge di settembre, determinanti la scomparsa stagionale di essi. Di capitale importanza, onde avvalorare l'ipotesi della trasmissione da parte del *Phlebotomus perniciosus*, sarà lo stabilire con quale percentuale e con quali modalità questo si possa infettare sperimentalmente, rispetto alle altre specie, come già fecero Adler e Theodor sui flebotomi dell'Europa Orientale, per mezzo di colture di leishmania.

A tale scopo, onde meglio accostarmi alle condizioni naturali, ho allestito colture del ceppo napoletano di

Leishmania donovani ed allevamenti di *Phlebotomus papatasi* e *perniciosus* catturati sul luogo. L'apparecchio sperimentato da Adler per la infestazione sperimentale dei flebotomi è stato approntato e modificato nel seguente modo:

un largo tubo di vetro A (fig. 10) viene tappato superiormente con ovatta, e inferiormente con pelle di coniglio P, sgrassata perfettamente e tesa a guisa di pelle di tamburo e assicurata con filo robusto: il tutto viene sterilizzato e introdotto nel foro del tappo di sughero T che viene a chiudere superiormente il tubo B chiuso con ovatta dal lato opposto. Nel tubo A viene versato il liquido di coltura C, che consta di acqua di condensazione di una coltura di

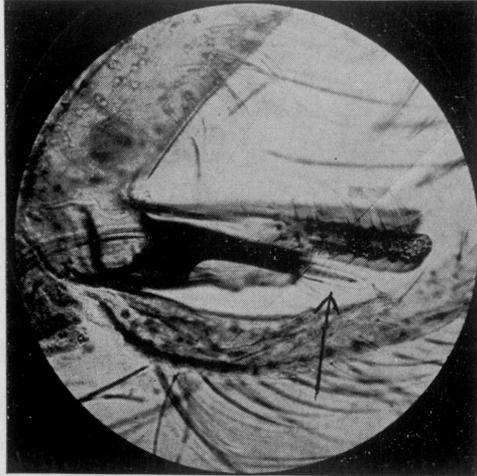


Fig. 16. - *Phlebotomus mayor*
pene in forma di daga.

(400.1).

Leishmania donovani su terreno NNN. Nel tubo B vengono collocati i flebotomi femmina F i quali succhiano la coltura cui viene aggiunto sangue defibrinato umano o di bue.

Il numero di leishmanie per mm^5 di coltura si contano col contaglobuli Thoma-Zeiss. All'esperienza si è visto, però, che i flebotomi

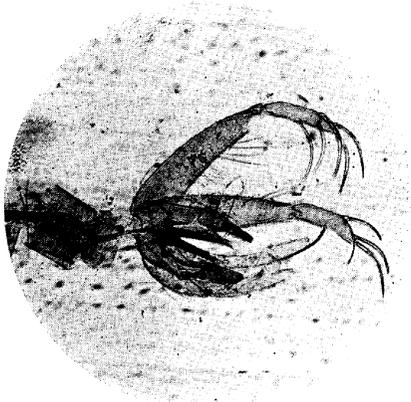


Fig. 17. — Armatura genitale di flebotomo (*Phlebotomus perniciosus*) messa in evidenza col metodo di PARROT: il doppio pene caratteristico spicca in bruno sul fondo chiarificato delle gonapofisi.

Ingrand. c. s.

femmina catturati nell'ambiente, avendo già compiuto il pasto di sangue sui bovini e sull'uomo (le abitudini del *Phlebotomus perniciosus* e *papatasi* locali coincidevano perfettamente con quelle del *Phlebotomus perfiliewi*), o non succhiavano il sangue della coltura, oppure morivano poco dopo, non dando tempo alle leishmanie assunte con la puntura di evolversi nel faringe.

Fu necessario, perciò, impiantare degli allevamenti di laboratorio, tali che obbligassero le femmine, appena accoppiate in cattività, a succhiare il sangue

della coltura; ciò avviene alla temperatura di 27° - 30° . Il programma di ricerche ora da svolgere è il seguente:

1° continuare a catturare i flebotomi nei luoghi della endemia, per trovare quelli infetti in natura, con vari accorgimenti tecnici; 2° stabilire l'indice d'infestazione sperimentale delle due specie di flebotomi locali col ceppo napoletano di *Leishmania donovani* e cogli allevamenti di flebotomi realizzati in laboratorio.

*
* *

Per lo studio dei flebotomi trasmettitori, si procede al rinvenimento di essi usando una sorgente luminosa, sufficiente ad illuminare a luce

radente i muri delle stalle e delle abitazioni, servendosi per la cattura di un catturatore ad aspirazione come quello usato per le zanzare. Si uccidono, poi, ponendo nel catturatore stesso un po' di cotone imbevuto di etere o di cloroformio; si conservano e si chiarificano nel lattofenolo, così composto:

Acido lattico	gr.	10
Acido fenico	"	10
Glicerina	"	20
Acqua	"	10

oppure nel liquido di Faure, con cui si possono allestire preparati permanenti; esso è così composto:

Acqua distillata	cmc.	50
Itrato di cloralio	gr.	50
Glicerina	"	20
Gomma arabica	"	30

in tal modo si mettono in evidenza gli organi genitali del maschio, su cui, come vedremo, è fondata la classificazione più semplice delle specie importanti per la trasmissione della leishmaniosi.

Per la ricerca dei flebotomi infettanti, si fissano le femmine in liquido di Bouin:

Soluzione acquosa satura di ac. picrico	parti	30
Formolo al 40 %	"	30
Acido acetico cristallizzato	"	2

poi si lavano in acqua corrente in un tubo Borrel (chiuso con organdis fissato con legatura) per 24 ore, poi si passano in alcool a 70, si disidratano e si includono in paraffina; le sezioni non devono oltrepassare i 6-8 μ e si colorano con emallume-eosina o con ematossilina ferrica di Heidenhain.

Per riconoscere le varie specie esistono classificazioni più o meno complicate, fondate sui caratteri degli organi genitali, sui caratteri

del faringe e sull'indice alare, dovute al Nitzulescu, al Parrot e al Grassi; ma la più semplice e alla portata di ogni medico è quella presente, fondata sui caratteri della pinza genitale del maschio (gonapofisi superiore e pene). È facile riconoscere, con l'aiuto di una lente, i maschi dalle femmine, per il fatto che nei primi l'ultimo

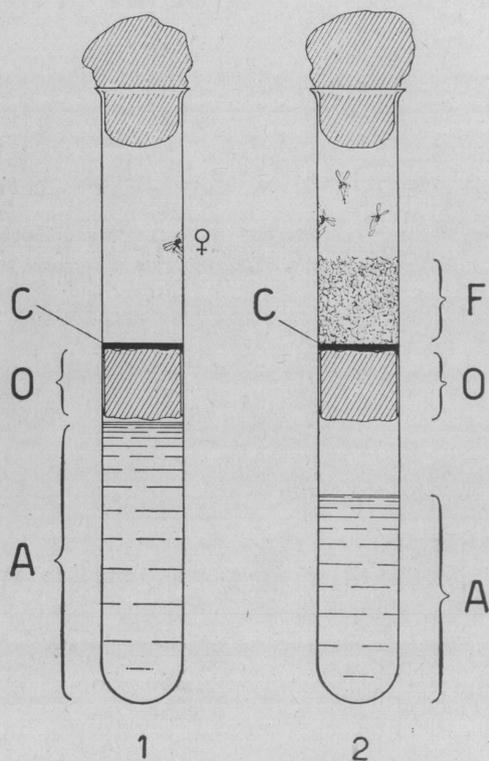


Fig. 18. - (spiegazione nel testo).

segmento addominale termina con appendici caratteristiche (fig. 11) cosparse di peli (pinza genitale) con gli organi intromittenti, costituiti da un doppio pene animato da spicoli filiformi (filamenti genitali); il doppio pene che contiene i filamenti genitali è costituito da due guaine chitinee (valve copulatrici). Per riconoscere sicuramente il pene basta seguire i filamenti genitali, che partono dalla pompa genitale (situata negli ultimi anelli addominali, con l'aspetto di una pompa da bicicletta) e che dopo aver attraversato il pene sporgono al di fuori di esso (fig. 12, 13). Dal punto di vista della trasmissione della leishmaniosi in Italia, trovo pratico quindi classificare il

genere *Phlebotomus*, secondo lo schema seguente:

Phlebotomus papatasi: gonapofisi superiore con spine irregolarmente verticillate; pene breve, conico (fig. 14), trasmettitore di leishmaniosi cutanea in Palestina e in Siria.

Phlebotomus mayor: gonapofisi superiore fornita di cinque spine coniche allungate, di cui due terminali e tre situate in un verticillo imme-

diatamente superiore; quindi la gonapofisi superiore pentadigitata, assume a un dipresso l'aspetto di una piccola mano (fig. 15); pene in forma di daga (fig. 15).

Pblebotomus perfiliewi: gonapofisi superiore identica alla specie precedente, pene a becco di clarino (fig. 12). (Trasmittitore in Italia di *Leishmaniosi cutanea* secondo Vanni).

Pblebotomus perniciosus: gonapofisi superiore c. s.; pene bifido forcuto somigliante a una zampa di capra (fig. 13). (Trasmittitore di *Leishmaniosi viscerale* in Oriente, secondo Adler e Theodor, e probabilmente in Italia).

Essendo di capitale importanza per la diagnosi di specie i caratteri dell'armatura genitale, e soprattutto del pene, non sempre col metodo suaccennato si possono mettere in evidenza tali particolari. Il metodo, che secondo la mia esperienza si adatta meglio a tale scopo, è quello di Parrot, il quale consiste nel fissare l'insetto per un'ora in alcool a 70°; si chiarifica per 12 ore in potassa al 10 %, si lava in acqua distillata per un quarto d'ora, si colora quindi in soluzione alcoolica di

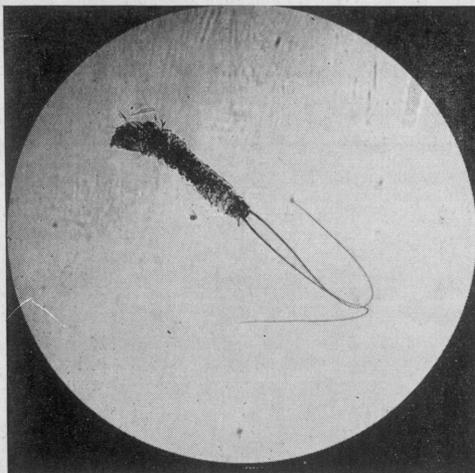


Fig. 19. — *Pblebotomus perniciosus*: larva.
(80.1).

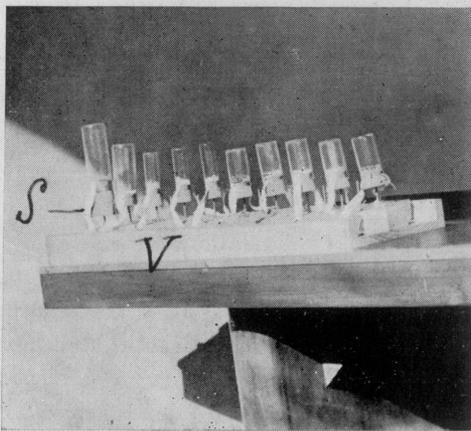


Fig. 20. — (Spiegazione nel testo).

blu di metilene all'1 % per 15 minuti, si disidrata e si monta in balsamo.

Mentre le gonapofisi vengono chiarificate e messe in netta evidenza, il doppio pene caratteristico rimane colorato in bruno e, spiccando in tutti i suoi dettagli sul fondo chiaro della preparazione, rende impossibile qualsiasi errore diagnostico (fig. 17).

Metodi d'allevamento dei Flebotomi. — Un metodo semplice per l'allevamento dei flebotomi, e che

sto tuttora sperimentando, è quello di A. I. Tschurenkova: si collocano flebotomi femmina ripieni di sangue a deporre le uova in provette con acqua (fig. 18, 1) limitata superiormente da uno strato di cotone idrofilo, tappato da un disco di carta bibula C bene aderente, ove i flebotomi depongono le uova: le larve sviluppano in 4-6 giorni: si aggiunge, quindi, uno strato spesso 3-4 centimetri F di fo-

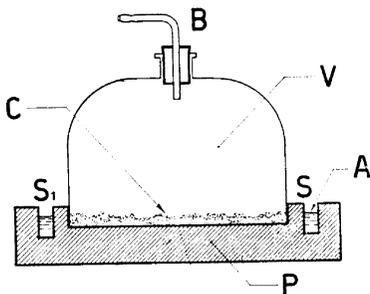


Fig. 21. — (Spiegazione nel testo).

glie di pioppo disseccate, (fig. 18, 2) finemente triturate e sterilizzate in stufa a 60° per 2 ore (onde impedire la convivenza di eventuali altri artropodi). In tale mezzo nutritivo si compie la evoluzione successiva delle larve in ninfa ed adulto. Il grado di umidità è autoregolato dallo strato d'acqua A il cui livello si riduce per evaporazione (fig. 18, 2) e mantenuto dallo strato di ovatta a contatto del mezzo nutritivo. Le provette si chiudono lassamente con ovatta, perchè vi sia aerazione sufficiente, e vanno mantenute, a riparo della luce, alla temperatura di 25-26°; il metodo ha il vantaggio di poter manipolare facilmente i flebotomi sfarfallati nella provetta che si può applicare sulla pelle umana o degli animali di laboratorio; quindi si presta bene per gli esperimenti d'infestazione sperimentale. Per ottenere un materiale sufficiente è necessario seminare almeno 300-400 provette. Lo sviluppo dei flebotomi adulti del Turchestan è stato ottenuto dall'autore in 31-35 giorni. Un altro metodo è dovuto al Najera: Esso consiste in una serie

di tubi di vetro tappati da ambe le parti (fig. 20), ove vengono collocate le femmine fecondate e pasciate di sangue, le quali depongono le uova in un detrito costituito di terra e feci disseccate di cavallo. Il grado di umidità costante viene mantenuto da altrettante strisce di stoffa S che pescano in una vaschetta d'acqua sottostante V. È tuttora in esperimento un altro apparecchio da me ideato costituito da un piatto di argilla P (fig. 21) nella concavità del quale sia disposta una miscela di terra e feci di cavallo C, ricoperta da una campana di vetro con una presa d'aria B; il grado d'umidità viene mantenuto nell'acqua A contenuta in un solco SS esterno, che circonda la campana di vetro, scavato sul bordo del piatto di argilla. L'acqua viene aggiunta, secondo il bisogno, man mano che evapora; essa penetra per capillarità, grazie alla porosità dell'argilla, mantenendo il grado d'umidità necessario. Tali metodi di allevamento verranno applicati allo studio della Biologia del *Phlebotomus perniciosus* della provincia di Napoli, in rapporto agli studi in questione.

BIBLIOGRAFIA

- VANNI V., *Ricerche sulla leishmaniosi cutanea endemica negli Abruzzi*, « Annali d'Igiene », 1938.
 — *Ricerche sulla leishmaniosi cutanea endemica negli Abruzzi* (trasmissione sperimentale). « Annali d'Igiene », 1939.
 — *Epidemiologia trasmissione e profilassi della leishmaniosi cutanea in Italia*. « Annali d'Igiene », 1939.
 — *Osservazioni e ricerche sperimentali in una endemia di leishmaniosi cutanea*. R. Accademia d'Italia, « Memorie della classe di Scienze fisiche naturali e matematiche », 1939.
 CORRADETTI A., *Ricerche sui flebotomi della zona endemica di leishmaniosi cutanea in Abruzzo*. « Annali d'Igiene », 1936.
 SACCÀ G., *Introduzione allo studio biologico e sistematico del genere phlebotomus (Diptera psychodidae)*. « Riv. di Parassitologia », 1941.
 — *Studi sui flebotomi della zona endemica di leishmaniosi cutanea in Abruzzo e Romagna*. « Riv. di Parassitologia », 1941.
 POGGI I. e MONTI G., *Esteso focolaio endemico di Leishmaniosi cutanea in provincia di Forlì*. « Annali d'Igiene », 1939.
 PONTANO T., *Leishmaniosi in soggetto di 52 anni contratta in Abruzzo*. « Policlinico » (sezione pratica), 1929.

NUOVI STUDI
SULLA LEISH-
MANIOSI ECC.

- DE CAPUA F., *La diffusione della Leishmaniosi infantile*. « La Pediatria », 1926.
ALBANO V., *Distribuzione delle Leishmaniosi in Italia*. « L'Igiene Moderna », 1939.
LAURINSICH A., *Dati statistico-clinici dal 1916 al 1936 raccolti nell'ambulatorio anti-Kala-azarico della R. Clinica Pediatrica di Napoli*. « La Pediatria », 1937.
MONACELLI M., *La L. cutanea in Italia*, ed. Pozzi, Roma, 1934.
TSCHURENKOWA A. L., *Metodo semplice per l'allevamento sperimentale dei flebotomi*. « Rivista di Parassitologia dell'Usbekistan », vol. I, 1936.

RIASSUNTO

L'A. espone le proprie osservazioni epidemiologiche e sperimentali che autorizzano a concludere essere il *Plebotomus perfiliewi* l'insetto vettore della leishmaniosi cutanea in Italia. Espone anche le osservazioni sul *Plebotomus perniciosus* in rapporto alla trasmissione della leishmaniosi viscerale nella provincia di Napoli, ed altre sul riconoscimento e lo studio dei flebotomi italiani in rapporto alla trasmissione delle leishmaniosi in genere.

97831

~~348164~~

Esercizio
la disciplina
mercato per
effetti c.

