

Muse B. 70/48

18 30

PROF. GIUSEPPE BASTIANELLI



MALARIA

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

Esemplare fuori commercio per
la distribuzione agli effetti di
legge.

PROF. GIUSEPPE BASTIANELLI

Malaria

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

ROMA - TIP. DEL SENATO DEL DOTT. G. BARDI

GIUSEPPE BASTIANELLI

MALARIA (*)

IN un libro del 1935 di un immunologo assai noto soprattutto per gli studi sulla vaccinazione del tifo, libro di grande interesse e di titolo singolare (**), un capitolo è intitolato: « Sull'influenza di malattie epidemiche nella storia politica militare e sulla relativa poca importanza dei generali ». Non si tratta di generali di oggi, ma di quelli delle Crociate fino a Napoleone, grandi in guerra, ma che mancavano dei servizi d'igiene. E le malattie vinsero generali ed eserciti. La malattia decisiva è stata quasi sempre il tifo. Alla malaria non spetta posto così importante. L'epidemia di Walcheren, che decimò l'esercito inglese e decise delle sorti dell'Olanda è stata, anche in epoche recenti, citata come disastro dovuto alla malaria. Ma i documenti esaminati colle conoscenze moderne ne rifiutano alla malaria le responsabilità. La malaria ha fatto gravi danni a molte armate, quantunque non decisivi per la storia. Un'armata che entri in un'area malarica espone al rischio della malattia masse di uomini fino allora indenni, soggetti non immuni, soggetti nuovi, come si usa dire. Sono i più suscettibili, i soli in cui la malattia può essere letale. Ed anche dove, per le condizioni del parasitismo, la malattia letale sia rara, la morbilità estesa riduce gli effettivi e le iniziative. La guerra di movimento può presentare

(*) Conferenza tenuta in Firenze il giorno 20 giugno 1941-XIX all'Accademia Medico-Fisica Fiorentina che, a richiesta della Redazione, viene ripubblicata su questa Rivista per gentile concessione dell'Autore.

(**) H. ZISSER, *Rats, lice and history*, Boston, 1955.

minor pericolo, ma, nella grande guerra, la guerra di trincea portò gravi danni. Anche il solo passaggio per un'area malarica può essere assai dannoso, come mostrò l'esperienza di Taranto, che fu sorgente d'infezione durante il passaggio delle truppe per l'Egitto. Gravissima fu la morbilità e la mortalità nelle armate di Macedonia. Nel 1916 cominciò in Macedonia la malaria tra le truppe inglesi con pochissimi casi nel giugno. Niente era noto antecedentemente sulle condizioni della malaria in Macedonia.

Le truppe occuparono prima una linea tra Salonico e il Golfo di Orphuno e dopo parecchi mesi avanzarono nella valle dello Struma. La seconda linea non era più malarica della prima, perchè le zanzare vettrici, *A. superpictus* nelle colline, *A. maculipennis* nelle valli, sono egualmente dense dappertutto nel territorio. A giugno i colpiti furono circa 90 ed alla fine della stagione raggiunsero la cifra di 30.000. Accadde lo stesso crescendo che accadeva nelle immigrazioni dei lavoratori nella campagna di Roma. Il numero degli immuni infettati dai pochi anofeli della località era scarso al principio. Ma quando per le infezioni successive cresceva il materiale infetto su cui si nutrivano gli anofeli, il numero degli insetti vettori infetti era così aumentato da determinare un'epidemia. Nell'inverno 1916-1917 l'esame del sangue (Wenyon) dimostrò che almeno un quarto della forza era infetto. Poco era noto delle condizioni malariche per la Mesopotamia e per la Palestina. La morbilità per malaria fu notevole quantunque non nella misura che in Macedonia. Nel 1916-1917 era disposto che tutte le unità ricevessero chinino profilattico, il che più tardi fu limitato a talune di esse, dove la malaria sembrò più frequente. In quella campagna risultò che le ammissioni all'ospedale furono assai minor parte della malaria realmente esistente, quindi non rappresentavano la reale diffusione della malattia. Secondo la percentuale di infetti, tra uomini presi a caso, quale risultava dall'esame del sangue — tra le truppe inglesi il 13,7 %, tra le truppe indiane il 27 % — avrebbero dovuto esserci, come dato statistico, giornalmente 1.000 britannici e 8.000 indiani con parassiti nel sangue, mentre le ammissioni all'ospedale furono rispettivamente 27 e 31. Nell'esercito inglese molti uomini provenivano già infetti dall'India. Nel settembre-ottobre 1918, nell'ultima avanzata del generale

Allenby al nord di Aleppo, furono esaminati in due mesi 40.000 preparati di sangue. Allo scoppio finale della malattia a settembre morirono 773 uomini per infezione da *falciparum*. Fu grave e fu importante, per affermare l'efficacia della profilassi chininica, la malaria nell'armata francese di Macedonia nel 1916-1918. Nel 1917 sopra un effettivo di 115.000 uomini ci furono 60.000 casi di malaria e molti letali. Dell'esercito tedesco ho poche notizie, ma il libro di Sayfert di anatomia patologica della malaria, tutto dovuto all'esperienza di Macedonia, mostra la gravità della malattia nell'esercito germanico, resa assai più grave dalla scarsità del chinino. Notevole per l'estensione, ma non per la mortalità, fu la malaria del Piave, ove prevalse l'infezione da *vivax*. In questa campagna l'uso del chinino fu molto diffuso, ma non sempre accuratamente eseguito.

* * *

Nell'immediato dopo-guerra occorsero recrudescenze della malaria nei paesi malarici. E le circostanze della guerra e del dopo misero in prima linea l'importanza sociale della malattia in tutto il mondo: così lo studio delle condizioni malariche in tutti i paesi fu uno dei principali interessi della maggiore organizzazione internazionale d'igiene. Fu lavoro di collaborazione di medici, igienisti, biologi ed entomologi di tutto il mondo. La malaria terapeutica, che, fino verso il 1924 era stata inoculata col sangue, dal 1924 fu indotta, in gran parte, a mezzo delle zanzare, realizzando così le condizioni naturali dell'infezione. Si è creata, cosa unica per l'uomo, una malattia sperimentale, che permette lo studio dettagliato di molti problemi. Ne sono venute conoscenze nuove, per le quali si può giustamente parlare di una nuova malariologia. Inoltre la malaria è stata esattamente studiata sul terreno, in modo che esistono dati assai sicuri sulle condizioni malariche di molte parti del mondo. E per i territori che potrebbero, nelle circostanze presenti, essere teatro di operazioni militari, le conoscenze malariche sono così perfette, che nessuna sorpresa dovrebbe esserci per i comandi o per l'organizzazione sanitaria.

* * *

Del risultato di alcuni degli studi della nuova malariologia desidero trattenermi e vi parlerò soltanto: 1° Delle nuove conoscenze sul parassita; 2° Delle zanzare vettrici; 3° Dell'immunità e 4° Della terapia e profilassi medicamentosa.

* * *

1° *Del parassita.* — All'uscita della guerra tutto pareva accertato sul ciclo del parassita. L'infezione degli anofeli sui gameti, lo sviluppo nell'intestino medio, lo sporozoite nelle glandole salivari e l'inoculazione all'uomo. In che modo lo sporozoite penetrasse nel globulo rosso era ignorato e gli studiosi si accontentavano delle ricerche di Schaudinn, il quale aveva descritto e figurato la penetrazione dello sporozoite nel globulo rosso. Ma quando si vollero ripetere gli esperimenti di Schaudinn la penetrazione dello sporozoite nel globulo rosso non fu potuta confermare (Yorke, 1925). Nè in seguito altri sperimentatori ci sono riusciti. Contemporaneamente Yorke potè stabilire un fatto di prima importanza, che il chinino dato i primi giorni (3-4), subito dopo la puntura con le zanzare infette e poi sospeso, non impedisce lo sviluppo della malattia al momento dovuto, ma lo impedisce se dato più tardi, cioè nei giorni in cui la malattia si dovrebbe sviluppare. Era anche noto da antiche esperienze che, cessati col chinino gli attacchi, il continuarlo per 2 o 4 giorni, non impedisce la recidiva, ma se dato al momento in cui questa può prevedersi, spesso la recidiva attesa s'impedisce. Fu fortuna che non si avesse a disposizione che il chinino, la cui azione è pronta e l'eliminazione è rapida. Se si fosse avuta l'atebrina, i risultati sarebbero stati meno costanti e di difficile interpretazione. Era anche noto che in casi *non rari* in cui si è potuto seguire all'ospedale l'intero decorso di un'infezione da *falciparum* apparentemente pura e curata col chinino ad ogni recidiva, (l'ammalato, non essendo ulteriormente esposto), dopo guarita l'infezione da *falciparum*, si sviluppa un'infezione da *vivax* rimasta latente. Il chinino preso antecedentemente nella cura

della prima, non aveva impedito lo sviluppo dell'altra. Con la guida di questi fatti si è voluto stabilire il momento in cui il parassita circola nel sangue, utilizzando giorno per giorno, trasfusioni del soggetto inoculato a soggetti sani (Boyd, Raffaele, De Sanctis, Monaldi). Raffaele negli uccelli dimostrò che v'è un periodo dai 3 o 4 giorni, dopo la puntura, durante il quale il sangue non è infettante. E, nell'uomo, per un periodo eguale, anche con trasfusioni di cmc. 250 di sangue a soggetti dello stesso gruppo sanguigno. Questi fatti portano a due conclusioni: 1) che c'è un periodo della vita del parassita durante il quale il chinino non ha ragione di esso; 2) che in questo periodo il parassita non circola nel sangue. Vale la pena di ricordare che, se invece di infettare colle zanzare, si inocula un soggetto direttamente con sangue infetto *non c'è periodo di incubazione fisso*, ma la febbre viene più o meno presto, secondo la quantità di parassiti inoculati e *il sangue del ricevente è quasi immediatamente infettante*.

Anche prima che questi fatti fossero analizzati per il loro significato, l'insuccesso a verificare la penetrazione dello sporozoite nel globulo rosso faceva nascere l'idea che tra il parassita endoglobulare e lo sporozoite esistesse un'altra fase, un ciclo di sviluppo dal quale originasse l'invasione degli eritrociti. L'idea prese forma di ipotesi scientifica nella ipotesi di James la quale, com'è stata presentata nella sua completezza da Ruge, ammise che lo sporozoite penetrasse nelle cellule reticolo-endoteliali e che lì si sviluppasse, formando colla sua moltiplicazione merozoiti, i quali, penetrando nel globulo rosso, iniziassero il noto ciclo endoglobulare del parassita. Secondo questa ipotesi, il chinino avrebbe azione sterilizzante sui parassiti endoglobulari, non sul ciclo supposto, al quale sarebbero dovute le recidive.

L'ipotesi di uno sviluppo in cellule del reticolo era confortata dalla conoscenza del ciclo asessuale dell'*Haemoproteus*, un emosporidiodio di cui il ciclo asessuale ha luogo nelle cellule del reticolo, mentre solo i gametociti invadono i globuli rossi. Nel 1934 G. Raffaele e nel 1935 C. G. Huff e Bloom indipendentemente, descrisero nel *Plasmodium elongatum* un ciclo asessuale non pigmentato nelle cellule giovani della serie rossa, anche in quelle meno differenziate, ed un ciclo asessuale ed un ciclo sessuale nei globuli rossi.

Più tardi G. Raffaele studiando l'infezione da *Pl. relictuif* nei canarini infettati da zanzare, dimostrò un ciclo apigmentato, che precede il ciclo endoglobulare, nelle cellule del reticolo seguendo le forme di questo ciclo fino alla moltiplicazione e ritenne che fosse il ciclo postulato e non ancora conosciuto. Se l'animale è infettato con sangue, il ciclo apigmentato del *relictum* non appare. La ricerca delle forme di questo ciclo è stata assai difficile oggetto di studio. Raffaele si trovò di fronte a un reperto scarsissimo e a dimostrare le forme del ciclo dovette pazientemente studiare gli organi interni, specialmente il fegato. L'esattezza di questi fatti, che le dette forme si sviluppano nelle cellule del reticolo, che il loro sviluppo precede il ciclo endoglobulare, va ritenuta ormai come fuori di discussione, come pure che le dette forme non vanno confuse coi toxoplasmi e che, come vedremo, non appaiono per le prime se l'uccello è inoculato col sangue. Più tardi James e Tate descrissero il ciclo del *Pl. gallinaceum* dei polli dandone la giusta interpretazione. Anche per questo plasmodio le forme apigmentate precedono lo sviluppo endoglobulare solo se l'uccello è inoculato con sporozoi, non lo precedono, se inoculate con sangue. Apparso il ciclo del globulo rosso in questo parassita si segue la continuazione dello sviluppo del ciclo apigmentato. Ricchissimo è il reperto del *gallinaceum* per la fase apigmentata. Il parassita si sviluppa anche nelle cellule endoteliali del cervello, che si trovano piene di elementi apigmentali, i quali bloccano il lume capillare. Più tardi Kikuth descrisse lo stesso ciclo per il *Pl. cathemerium*, identico a quello descritto da James e Tate. In seguito Kikuth dimostrò le prime forme di questa fase negli elementi del reticolo. Ormai, sui punti essenziali della scoperta di Raffaele, l'accordo degli studiosi è completo.

Dalla tavola (*) che illustra il detto ciclo per i tre parassiti potrete vedere l'aspetto degli elementi e il loro sviluppo. Questo ciclo che precede quello endoglobulare costituisce il primo tempo del periodo d'incubazione, il quale risulta: 1) dallo sviluppo della fase apigmentata; 2) seguito dal tempo necessario che i parassiti del ciclo endoglobulare siano in tal numero da apparire nel sangue. A questo momento iniziano i fenomeni clinici.

(*) La detta tavola non è riprodotta nella stampa.

I due cicli hanno ricevuto vari nomi: fase apigmentata, fase E, fase esoeitrocitica. Raffaele ritiene che la fase apigmentata continui il suo sviluppo, invadendo di nuovo gli elementi del reticolo e i globuli rossi. I due cicli si continuano. Il continuarsi del ciclo si dimostra facilmente per i plasmodidi di cui il reperto della fase E è abbondante come per il *gallinaceum* e per il *catbemerium*. Un reperto negativo può significare soltanto scarsità estrema. Verosimilmente, così può essere per il *Pl. relictum* nei canarini. D'altra parte uno stesso plasmodidio può comportarsi diversamente rispetto a questa fase in altro ospite. Ed è quello che accade per il *Pl. relictum* il cui reperto E è abbondante nell'infezione dei pinguini. Non solo la specie del parassita, ma l'ospite sono fattori della maggiore o minore abbondanza dello sviluppo delle forme non pigmentate. *La fase E è stata dimostrata nell'uomo con la puntura sternale* in tre casi durante l'incubazione, in un caso di quartana nel decorso della malattia.

In conclusione nel decorso dell'infezione coesistono ambedue i cicli esoeitrocitico ed eritrocitico. Dal ciclo esoeitrocitico derivano i merozoiti che invadono i globuli rossi e merozoiti che invadono le cellule del reticolo, ciclo *istotropico* questo ed *eritotropico* l'altro, secondo Raffaele. Denominazione che può essere mantenuta, anche essendo accertato che dalle forme del ciclo endoglobulare possono prodursi merozoiti che si sviluppano nella fase apigmentata entro le cellule del reticolo, cioè il ritorno di un ciclo nell'altro. È assai difficile darne la dimostrazione sperimentale. Anche la tecnica più fina difficilmente può garantire che si riesca a inoculare *niente altro* che forme di una fase. Ma alcuni studiosi hanno portato la tecnica a tale perfezione da permettere tenerne conto. *A priori* niente può opporsi alla possibilità di tale ritorno alla fase precedente. Schu-leman e collaboratori hanno osservato che inoculando nei muscoli il *Pl. gallinaceum*, dopo una latenza di 5, 9 giorni, appaiono i primi parassiti nei globuli rossi. Il massimo dell'infezione del sangue è al 17^o e 19^o giorno. Essa poi regredisce e tra il 25^o 30^o giorno si osservano le forme apigmentate. James aveva già constatato lo stesso fatto, Coulston e Manwell (1911) usando il micromanipolatore, o il metodo delle diluizioni progressive, sono riusciti a inoculare nei canarini con sangue il *Pl. circumflexum* in

quantità minime: da una sola a più cellule infette. Le forme esocitriche appaiono nei passaggi successivi quando, trasmettendo quantità sempre maggiori di parassiti, l'infezione diviene più intensa. In due casi del quinto e undicesimo passaggio in serie hanno trovato le forme apigmentate. Le osservazioni di James, Schuleman, le quali hanno dimostrato che le forme apigmentate appaiono quando l'infezione eritrocitica è già avanzata e in regresso, meritano rilievo. Sono le forme resistenti ai rimedi, e, entro certi limiti, alle azioni immunitarie, come fossero destinate a mantenere l'infezione nell'ospite.

È accertato che le forme apigmentate resistono ai rimedi antimalarici. L'animale guarito col rimedio dall'infezione acuta endoglobulare, non mostra più forme eritrocitiche, ma, negli organi, solo quelle della fase apigmentata. Kikuth ha inoculato triturazioni di organi infetti di forme *E*, ma liberi di forme pigmentate. L'infezione indotta a questo modo non è prevenuta dai rimedi schizonticidi nè dalla plasmochina, nè dalla certuna. Forse l'infezione è alquanto trattenuta dalla plasmochina. E sempre si tratta di un'infezione gravissima, contro la quale neppure sono efficaci i rimedi dati nella fase eritrocitica.

Come conclusione generale si può stabilire *che tutti i plasmodidi finora studiati sviluppano per prima nel reticolo endotelio una fase apigmentata, dalla quale avviene l'invasione dei globuli rossi*. Con questa dimostrazione è colmata la lacuna tra lo sporozoite e il parassita endoglobulare. Così è chiarito il così detto periodo negativo della incubazione. Clinicamente è uno dei punti più interessanti della scoperta. Dal punto di vista biologico completa la storia di un gruppo di protozoi. Le differenze tra i vari parassiti (e tra questi secondo l'ospite), nell'abbondanza maggiore o minore di detta fase, sono differenze di grado. Per l'uomo sembra, almeno fino ad ora, che la fase abbia minimo sviluppo. *Ma essa inizia l'infezione del globulo rosso la quale, per l'uomo, costituisce tutta la malattia*. E per l'uomo, da quanto finora sappiamo, si può ritenere che lo sviluppo continui durante il corso della malattia tanto quanto basta a mantenere l'infezione. Tutti gli studiosi dell'argomento sono d'accordo nel ritenere che le recidive sono dovute alla fase non pigmentata. La fase endoglobulare è sterilizzata dai rimedi prontamente; meno

prontamente, ossia dopo un certo tempo, ma non di rado, in modo, quasi critico, dalle azioni immunitarie. La fase apigmentata resiste ai rimedi. Un grado di immunità che agisca sulla fase eritrocitica al punto da far cessare temporaneamente la malattia, probabilmente sospende o riduce anche l'attività della fase apigmentata. In seguito anche questa è sterilizzata o arrestata nel suo sviluppo dal grado di immunità che dà la guarigione definitiva. E questo è altro lato clinico interessante della scoperta. Che durante il corso della malattia la continuazione del ciclo avvenga o prevalga col modo descritto da Raffaele, o altrimenti ha minore importanza per l'interpretazione delle recidive. Secondo ogni probabilità, il grado di resistenza, o permanenza, della fase apigmentata può essere invocato a spiegare le differenze nel decorso della malattia nelle varie infezioni dell'uomo: dalla brevità dell'infezione da *falciparum*, a quella di maggior durata della terzana fino alle lunghe latenze della quartana.

2) *L'insetto vettore.* — Gli studiosi romani della fine del secolo conclusero che tutte le specie del genere anofele trasmettono, o possono trasmettere, la malaria. Conclusione fondata sullo studio di quattro specie italiane, le sole allora a disposizione: *An. Maculipennis*, *bifurcatus*, *pictus* e *poendopictus*. Da allora le specie di anofele conosciute sono molte di più, non meno di 160 e circa 50 varietà. In laboratorio possono essere infettate tutte, alcune facilmente, altre con difficoltà. Ma il mondo è pieno di anofeli e la malaria non c'è dappertutto, e di fatto in Italia si riconobbe al principio del secolo l'anofelismo senza malaria, ma non fu potuto subito spiegare.

La risposta al problema è che, in regioni malariche, non tutte le specie di anofeli, che vivono in esso, trasmettono la malaria nelle condizioni in cui la malattia si prende in natura. Di fatto le specie vettrici sono 19 e, di queste, solo alcune varietà.

Al principio del secolo gli studiosi della malaria del Bengala (Christophers, Steffens e poi James) si trovarono di fronte al fatto imbarazzante, che l'anofelismo era più denso nelle regioni indenni di malaria, meno denso dove la malaria prevaleva. Presto videro che la fauna anofelica è costituita in quelle regioni da specie differenti. Nella regione indenne, ma ricca di anofeli, trovarono l'*An. Rossii*, in quella malarica l'*An. listoni*, assente nella prima. Gli *An. Rossii*

catturati nelle capanne degli indigeni non erano infetti, anche nelle regioni più insalubri. L'*An. listoni* invece era infetto e, quantunque fosse di scarsa densità, senza confronto con quella del *Rossii*, bastava a trasmettere una malaria abbastanza intensa. Vettrici della malaria sono le specie che preferiscono pungere l'uomo. Quelle che preferiscono pungere gli animali non la trasmettono. Anche se accidentalmente pungono l'uomo e si infettano, le successive punture sono per gli animali, quindi la *chance* di trasmettere l'infezione è trascurabile. Nel piano litorale della penisola maledese Watson riconobbe l'importanza decisiva dell'*Anopheles umbrosus*. Cambiando all'*umbrosus* le condizioni di vita, cioè esponendo alla luce i focolai larvali, ne era impedito lo sviluppo. Degli altri anofeli non era più il caso di occuparsi.

Da questa scoperta originò la così detta « *bonifica specifica* », cioè diretta solo contro la, o le specie vettrici e trascurando le altre. La lotta è contro la fase larvale: debbono essere studiate le condizioni che permettono lo sviluppo delle larve. Riconoscere le larve delle varie specie non è difficile agli esperti. Se si creano condizioni sfavorevoli allo sviluppo delle larve, la specie non si accomoda ad altre condizioni e sparisce. Le condizioni favorevoli, o non, allo sviluppo possono essere e sono varie. Esposizione alla luce, o all'ombra, acqua stagnante, o appena corrente, utilizzazione di ogni pozza d'acqua a deporre le uova, maggiore o minore salinità delle acque, vegetazione. La conclusione di questi studi è stata che, salvo eccezioni, l'essere vettore della malaria è carattere della specie.

*
* *

Il problema è stato difficile dove esiste una sola specie di anofele, nel caso, il *maculipennis* che è praticamente l'unica zanzara in estese regioni malariche, ad esempio, nella campagna di Roma, mentre prospera ed è fittissimo in regioni del tutto sane, come Val di Chiana, lago di Massaciuccoli, la piana di Rieti, regioni in cui non si sviluppa malaria e neppure si sviluppava al ritorno di operai infetti dai luoghi malarici. Lo stesso accade in Olanda. Roubaud vide in Francia che, nei luoghi in cui l'agricoltura porta alla stabulazione, il *maculipennis* preferisce pungere il bestiame. Egli cercò nel macu-

lipennis caratteristiche morfologiche, che potessero dare spiegazione della preferenza. E credè trovarlo nel così detto indice mascellare, cioè la media dei denti delle mascelle. Un basso indice indicherebbe androfilia quindi la pericolosità. Ma l'indice non è costante nella stessa specie. Non è indice di varietà individuale, ma è valore medio statistico. È inutile che vi presenti gli argomenti pro e contro la teoria dell'indice mascellare. Gli entomologi hanno rifiutato la dottrina che il numero di denti, da 14 in su, significasse maggior facilità a pungere gli animali.

Rifiutata la teoria dell'indice mascellare, era evidente che la semplice constatazione dell'androfilia, o della zoofilia non avanzava la soluzione del problema. Ma era necessario trovare una spiegazione con la guida del fatto accertato che, in natura, è la specie che determina l'essere o no vettore della malaria. Lo studio fu portato su un'altra strada che poi è stata riconosciuta essere la vera, da Falleroni, il quale riuscì a distinguere tre tipi di uova nel *maculipennis*, differenti di colore, strie ed altri particolari segni, nei quali egli riconobbe carattere di varietà. Ne distinse tre varietà o razze, alle quali diede il nome di *A. m. labbranchiae*, *A. m. messeae*, *An. m. basilii* e ritenne che uno di essi fosse vettore di malaria. È riconosciuto che da noi il *labbranchiae* è vettore, non il *messeae*, nè la terza varietà cui si è dato il nome di *A. m. typicus*. Alle osservazioni di Falleroni non si volle dar credito, quantunque conoscitore di zanzare. Fu veduto poi che in Olanda, ove la malaria è data dal *maculipennis*, questo è densissimo nella regione meridionale dove non c'è malaria. La malaria di Olanda (esclusivamente infezione da *vivax*) esiste solo nel nord, dove è stato conquistato territorio dal mare. Van Thiel riconobbe che l'*A. maculipennis* in Olanda non è specie unica, ma che è costituita da due varietà, una identica al *messeae* ed innocua, l'altra con ali più corte, alla quale diede il nome di *A. m. atroparvus*. Questa è vettrice e si trova nel nord Olanda: questa varietà depone le uova nelle acque salmastre di salinità al 0,25 % circa dei polders, dei canali; l'altra nelle acque dolci dell'Olanda meridionale che è sana. Dopo queste scoperte, era chiara la direzione che dovevano prendere studi ulteriori. Martini di Amburgo, Hackett della Rockefeller e Missiroli di Roma ripresero lo studio sulle linee

MALARIA. di Falleroni e, oltre alle varietà di Falleroni e di Van Thiel, identificarono il *subalpina*, l'*elutus*, il *melanoon*. E vale la pena, anche per l'interesse clinico, ricordare alcune particolarità del vettore olandese. Questo, malgrado una certa deviazione stubulare, abita le case dell'uomo specie gli attici dove dormono i contadini. A settembre cessa l'attività sessuale delle femmine, che non depongono più le uova, quindi non escono dalle case dove passano l'inverno. Ma mentre gli anofeli dalle ali lunghe sono realmente razza ibernante, quelli dalle ali corte, quantunque non maturino più le uova, continuano a pungere e si infettano, soprattutto sui ragazzi portatori sani, cioè che hanno parassiti in quantità più che sufficiente a infettare l'anofele, ma che non hanno febbre e quindi non sono curati. Le zanzare pungono sani e malati; la malattia si sviluppa non subito, ma dopo una latenza di 8-9 mesi, cioè alla primavera seguente. La latenza primaria di otto mesi, è frequentissima nella terzana prodotta dallo stipite olandese. Non si tratta di fenomeni dovuti alla stagione, ma solo di coincidenza stagionale, perchè la latenza, si è veduto sperimentalmente che può occorrere in qualunque stagione.

In Olanda la malaria dell'estate è data dagli anofeli infettati su malati di primavera. Ma anche in Olanda l'infezione indotta con lo stipite di Madagascar, non ha la lunga latenza di quella indotta dallo stipite locale. Dal che risulta anche di più l'importanza dello stipite a determinare una caratteristica della malattia. Tra noi la latenza della terzana è assai rara. La malattia ha l'ordinario periodo di incubazione. La lunga latenza si vede a volte in soggetti che hanno avuto un'infezione, pure da *falciparum* decorsa nel modo ordinario, soggetti rimasti sempre all'ospedale, quindi non esposti ad ulteriori infezioni. Guarita l'infezione da *falciparum*, ammalano di terzana da *vivax*. Ciò era noto agli antichi studiosi di Roma, i quali per questi casi hanno parlato d'*infezione latente* (1896) e proposero, anzi, a spiegarla, anche una teoria per cui potrebbero, come è stato voluto per molti, pretendere il titolo di precursori. E non è improbabile che lo scoppio di quella che Marchiafava e Celli chiamarono epidemia primaverile, o febbri primaverili, quasi tutte in soggetti che avevano avuta la malaria in estate, fosse in parte sviluppo di un'infezione acquistata in estate od autunno con-

temporaneamente ad una infezione da *falciparum*. Nei nostri climi accade come nella Florida, che la latenza primaria della terzana sia quasi sempre legata alla doppia infezione. Ma la storia non finisce qui. Il *bifurcatus*, che è innocuo in Italia, è vettore in Palestina, il *typicus* in Romania, il *messeac* in Russia. L'*An. byrcanus*, considerato come specie del tutto inoffensiva sul litorale settentrionale dell'isola di Borneo, a Giava ed altrove, è vettore della malaria a Sumatra. Eppure dal punto di vista morfologico, appartiene alla stessa specie ed alla stessa varietà che abitano gli altri paesi. Swellengrebel conclude: *non riconoscendo tra due anofeli differenze morfologiche sufficienti a creare varietà, ciò non implica che non esistano tra essi differenze biologiche.*

3) *Immunità.* — Se si eccettuano le infezioni gravi da *falciparum*, le perniciose, le quali reclamano l'intervento immediato, la malaria, anche non curata, guarisce, come ogni altra malattia da infezione, per il determinarsi di reazioni immunitarie. È malattia di lunga durata, quindi l'immunità che porta alla guarigione definitiva, si acquista gradualmente. Ma un notevole grado di resistenza si sviluppa rapidamente. Basta confrontare il principio dell'attacco primario, quando l'organismo risponde all'invasione parassitaria, i primi giorni, con febbre irregolare o fenomeni più marcati, col divenire, dopo pochi giorni, regolari ed uniformi i parossismi febbrili, sia per l'altezza o durata della febbre, sia per la quantità di parassiti, la quale rimane uniformemente la stessa, senza confronto maggiore che al principio quando la reazione era più intensa. La recidiva di un'infezione da *falciparum* grave non è perniciosa, anche che presenti sintomi inquietanti. In questa infezione solo all'attacco primario il parassita può avere il potere illimitato di moltiplicazione, al quale è dovuta la perniciosità. Ad un certo punto della malattia, dopo settimane di parossismi febbrili, cessa la febbre (prendo come tipo la terzana da *vivax*) pure rimanendo i parassiti, ma in minore quantità che durante gli attacchi. Più tardi, dopo alcune recrudescenze, la febbre può cessare, scompaiono i parassiti e segue una lunga latenza senza febbre, nè parassiti. Tutti segni di un'immunità già agevole, quantunque insufficiente alla guarigione. Difatti, alla latenza, segue ritorno di parossismi febbrili, che possono durare più o meno, con o senza recrudescenze. Dopo i quali la malattia

finisce. Il soggetto è guarito. Una superinfezione indotta artificialmente nel decorso della malattia ha decorso abortivo, nè influisce sull'andamento della infezione preesistente.

L'immunità che ha portato alla guarigione protegge il soggetto contro reinfezioni colla stessa specie parassitaria e con lo stesso stipite. È immunità che non sempre è dello stesso grado. Il parassita spesso si sviluppa dopo il periodo di incubazione e talvolta con febbre, ma tutta la malattia è costituita da questi fenomeni che sono di poca importanza e di breve durata. L'immunità può essere, o di tale grado che il soggetto distrugge grandi quantità di parassiti inoculati col sangue come è l'immunità dell'uomo nell'infezione da *Plasmodium knowlesi* e in alcuni casi di infezione da *vivax*. Quando ciò avviene, si usa dire che si tratta di soggetti iperimmuni, o, semplicemente, mancano manifestazioni cliniche e parassitarie, come spesso accade dopo la guarigione della infezione da *vivax*, quando c'è stata la recidiva. Oppure può aversi comparsa di parassiti in mediocre densità, ma senza febbre o poca. La presenza dei parassiti può durare anche molti giorni con completo sviluppo, fino alla formazione dei gametociti, i quali, nell'infezione da *falciparum*, si sviluppano più tardi che per le altre infezioni. *L'importante è che tutti i fenomeni sono transitori.*

Tale immunità persiste a lungo, quantunque in grado diverso. I dati più sicuri sono quelli dell'infezione da *vivax*, la quale è studiata sperimentalmente da molti anni. È noto in malarioterapia quanto è difficile dare di nuovo la terzana in chi l'ha avuta una volta nella vita. Sono registrati casi d'immunità marcata dopo 7 anni (Boyd) alla reinoculazione con sangue assai infetto ed anche dopo 4 anni alla puntura di molte centinaia di zanzare intensamente infette (James). Per il *falciparum* sono meno numerosi i dati sperimentali. L'infezione da *falciparum* dura meno che le altre, solo alcuni mesi. Di regola entro 7 mesi, più o meno, la malattia guarisce ed il soggetto è immune ed, a guarigione avvenuta, dopo 4, 6 fino a 7 e in un caso 14 mesi; nella metà dei casi c'è completa immunità. Nella metà circa, si sviluppa la malattia mite e breve come sopra si è detto. Un soggetto già reinoculato e dimostrato immune al 14° mese, sviluppò reinoculato al 22° mese una forma abbastanza intensa che fu dovuta combattere col chi-

nino. Ma la cessazione della febbre avvenne in 4 giorni. Quantunque il decorso breve della malattia sia stato dovuto al rimedio, a persuadersi che esisteva una buona immunità basta il confronto coll'andamento della prima infezione, sia per la curva termica di questa, sia per il tempo che fu necessario a far cessare la febbre e sparire i parassiti col chinino. Si ha l'impressione che per il *falciparum* l'immunità sia meno solida che per il *vivax* e che declini col tempo.

Quello che ho detto finora vale solo per la malaria sperimentale, indotta naturalmente, ossia per la puntura delle zanzare, e vale soltanto per reinoculazioni fatte con la stessa specie del parassita e con lo stesso stipite. L'immunità è omologa per la specie, omologa per lo stipite. È la legge fondamentale dell'immunità della malaria.

L'immunità acquistata coll'infezione da una specie parassitaria non protegge dall'infezione da un'altra specie. Neppure il *vivax* e lo *ovale* apparentemente così vicini, danno immunità l'uno verso l'altro. Fa eccezione la immunità tra il *vivax* e il *Pl. knowlesi*, recentemente introdotto nella malaria sperimentale umana. Quando un soggetto è stato inoculato col *vivax*, i risultati dell'inoculazione da *Pl. knowlesi* sono simili a quelli dell'immunità relativa di diversi stipiti di *vivax*.

L'immunità tra le varie specie di plasmodidi delle scimmie è così rigorosa come per l'uomo. Negli uccelli esiste immunità incrociata tra il *Pl. cathemerium* ed il *Pl. relictum*, ma secondo Raffaele, deve precedere l'inoculazione del *cathemerium*.

La conclusione è che le differenze immunitarie per l'uomo e per le scimmie sono criteri validi per l'identificazione di specie. Meno validi per la malaria degli uccelli.

*
* *

L'immunità è più o meno specifica per lo stipite di ciascuna specie. Sono molti gli stipiti ben conosciuti. Uno stipite coltivato opportunamente in laboratorio, o mantenuto attraverso passaggi, conserva indefinitamente le proprietà morfologiche e biologiche. Ed esistono stipiti, ormai classici, che sono passati attraverso laboratori di tutto il mondo. Perché mantengano le dette proprietà vanno colti-

vati con passaggi solleciti, con le zanzare più adatte, inoculando soggetti umani nuovi, ematologicamente sani (James). Le differenze biologiche portano differenze sull'intensità della malattia provocata, sulla durata del periodo di incubazione — fino alla latenza primaria (lunghe incubazioni) nell'infezione da *vivax* — sulla maggiore facilità alla guarigione spontanea, sulla capacità di dare o non una latenza secondaria. Anche c'è diversità a risentire l'azione dei rimedi, indipendentemente dall'essere uno stipte più attivo dell'altro. Ad esempio, il *vivax* Madagascar sente la mediocre azione del salvarsan più che il meno attivo stipte olandese. Dalla guarigione senza recidive con poco chinino alla notevole gravità del *falciparum* di Sardegna e di Roma la specificità è abbastanza rigorosa nella malaria umana. Nella quale è meno rigorosa per la terza da *vivax*. Esiste per questo parassita una protezione di gruppo non disprezzabile, la quale ha indubbiamente importanza per l'epidemiologia. *Nessuna protezione di gruppo esiste tra gli stipti del Pl. falciparum*. Oltre ai ben noti di Sardegna e di Roma, che possono dare perniciose, ed uno stipte indiano, relativamente innocuo perchè la malattia data da esso guarisce senza recidiva, solo col chinino, anche in località relativamente circoscritte ne sono stati identificati parecchi; almeno cinque nella Florida in una estensione di poche miglia e sembra che, tra questi, oltre alle differenze cliniche specialmente per la durata della incubazione, esistano differenze morfologiche riconoscibili. In India parecchi stipti sono stati riscontrati nel *Pl. knowlesi* nello stesso territorio. Essi danno immunità di gruppo, ma non costante e immunità specifica (omologa). Ma soggetti resi più o meno immuni a cinque stipti e che mostravano una immunità abbastanza forte, hanno potuto contrarre da un altro stipte infezione letale. Gli antigeni possono essere divisi in: 1) antigeni di gruppo comuni a tutti i membri del gruppo; 2) antigeni di gruppo comuni solo ad alcuni membri del gruppo; 3) antigeni specifici per ciascun tipo. Convincersi dell'esistenza di questa molteplicità di stipti nella stessa area malarica può parere difficile. Ma allo stato delle nostre conoscenze sembra impossibile fare a meno di ammetterlo, se si vuole tentare di spiegare il contrasto tra l'immunità della malaria sperimentale, che si acquista facilmente e che è abbastanza solida,

e, per alcune specie almeno abbastanza durevole, e quella lenta ad acquistarsi ed apparentemente labile degli abitanti dei territori malarici.

Ipotesi non mancano a intendere, o a tentare di intendere, la varietà degli stipti. Quello che Manwell esprime riguardo al concetto di specie « definire la specie non riuscirà perfettamente fino a che non sia conosciuto se avviene o no un incrocio negl'invertebrati » è concetto da molti non accettato. Ma potrebbe con minore difficoltà essere applicato alla definizione degli stipti.

In conclusione: 1) La specificità delle reazioni immunitarie è caratteristica dello stipte e per la malaria umana è criterio di differenziazione dei vari stipti. È rigida per il *falciparum*.

2) Che per il *Pl. knowlesi* la specificità dello stipte è meno caratteristica, ma il notevole grado di tolleranza acquistato verso altri stipti non è eguale per tutti.

*
* *
*

È ammesso dai più che l'immunità persista fino a che il soggetto porta con sé il parassita. Eliminato il parassita, l'immunità sarebbe perduta. Si tratterebbe dunque di immunità « legata all'infezione persistente » (Doerr). È stata anche definita come immunità « del tipo, non sterile » (Smith) o come è chiamata dai più « premunizione » (E. e S. Sergent). Secondo Sergent questa forma di immunità va contrapposta come forma particolare, alla immunità, che praticamente dura tutta la vita e non è dipendente dalla presenza del microrganismo (come quella degli esantemi e della febbre gialla ecc.), sia pure in latenza. L'unico dato sperimentale ad ammettere la necessità della presenza del parassita è l'osservazione di Sergent della perdita dell'immunità da *relictum* quando i parassiti sono scomparsi: il che, secondo Raffaele, non è senza obiezioni.

Che il parassita possa persistere in latenza per anni è dimostrato per la quartana dalle recidive accertate e ritenute, dopo buona critica, come dovute ad un'infezione antica, le quali, sia pure straordinariamente di rado, occorrono dopo 20 e più anni, dalla quartana comunicata con trasfusione da donatori che erano stati anche senza aver mai avuto febbre, in aree malariche anche molti anni

prima. Ad escludere la presenza dei parassiti, sarebbero necessarie, secondo Sergent, trasfusioni di mezzo litro e più, ma anche un reperto negativo, non risolverebbe la questione. D'altra parte, per molte infezioni la persistenza del parassita negli immuni è provata.

Posta così la questione, la soluzione sperimentale appare impossibile. L'iperimmunità che l'uomo acquista per il *Pl. knowlesi*, la quale è capace di distruggere interamente forti dosi parassitarie, distruzione dimostrata dal risultato negativo delle inoculazioni nel macaco Rhesus (*silenus rhesus*) rende molto perplessi ad accettare la teoria della premunizione nel senso della necessità della persistenza del parassita, a mantenere l'immunità. Così anche l'iperimmunità di alcuni soggetti verso il *Pl. vivax* inoculati con quantità di sangue colossali o con numero enorme di zanzare fortemente infette. La premunizione come è definita dai Sergent, dovuta alla presenza antecedente (*préséance*) del microbo primo occupante, secondo ogni verosimiglianza può non essere altro che un'immunità non sterile, il che non significa che sia dovuta alla presenza del parassita, e che, quindi, debba opporsi all'immunità delle infezioni da esantemi come qualche cosa di sostanzialmente diverso. *A priori* sembra altrettanto giustificato pensare che la persistenza dell'agente sia conseguenza di immunità insufficiente, ma il meccanismo (Doerz) sarebbe lo stesso.

* * *

Nel 1900, dopo studiata la malaria nelle popolazioni dell'Africa Orientale tedesca, Kock scrisse queste conclusioni che sono state punto di partenza dello studio dell'immunità nella malaria: « Nei territori di malaria endemica la vita sarebbe impossibile alle popolazioni, senza un'immunità acquisita, che non esiste nell'infanzia, è semisviluppata nell'età intermedia e negli adulti è completa. Gli adulti sono senza parassiti, i bambini più avanti negli anni stanno nel mezzo, sono sani, ma portatori, specie di *gametociti* ». Criteri dell'immunità erano, secondo Koch, l'assenza dei parassiti e del tumore di milza. Raggiungere questo ideale d'immunità attraverso i danni e i pericoli di una malattia che dura tanti anni è assai raro, o almeno è privilegio di poche popolazioni.

Dove la malaria è endemica, gli abitanti sono più o meno infetti, ma sono tolleranti — rare sono le febbri alte, le condizioni generali anche esse tollerabili se pure mediocri, particolarmente dove l'alimentazione è scarsa e disadatta. Questa condizione di tolleranza acquisita è l'immunità dei paesi malarici. La quale è di grado diverso anche nella stessa razza, ma in territori diversi. A darne idea può bastare il recente studio di B. Wilson su due tribù della stessa razza Bantu (tribù Digo e tribù Nyramba). La prima vive in una regione della costa, la seconda in regione più elevata. Nella prima l'anofelismo è intensissimo ed è dato dall'*An. gambiae* che, in quei paesi e in queste popolazioni, è vettore efficace. Lo studio è stato fatto sull'indice splenico, e, cosa nuova, con la conta dei parassiti dall'infanzia ai 10 anni ai 20 e in sopra. Nella tribù più infetta (Digo), i bambini sono intensamente (così dice l'autore) infetti, o soggetti ad attacchi intensi di malaria, gli adulti sono senza sintomi, ma rivelano la loro premunizione (*sic*) con pochi parassiti nel sangue. Il loro indice parassitario è circa 40 %. Nei bambini i parassiti sono 7.000 per mmc. e meno di 200 negli adulti. Veramente la cifra di 7.000 parassiti, al confronto della loro densità negli attacchi ordinari nei nostri climi è tutt'altro che alta — un parassita su 700 globuli rossi — quindi, rispetto a queste cifre, sarebbe interessante sapere quale sia realmente l'importanza clinica degli attacchi. Nella stagione epidemica la cifra aumenta per i bambini di 2.000 parassiti fino al 2° anno di età poi non più. Dopo i 3 anni è già notevole il calo del numero dei parassiti e dall'11° anno al 20° la media è di 364 per mmc. senza aumento nella stagione epidemica. *Gli abitanti di questa regione sono esposti a circa trenta punture infellanti all'anno.* Il tumore di milza rapidamente si riduce cogli anni. Nella tribù Nyramba la differenza nel numero dei parassiti tra il periodo interepidemico e l'epidemico è più marcata, da 5.000 a 14.000. Gli adulti hanno tumore di milza nel circa 80 %, hanno a volte febbre. I Nyramba sono esposti a *quattro volte fino a otto volte all'anno a punture infellanti.* In conclusione, dove l'esposizione alla malattia è intensa, il numero dei completamente immuni è maggiore. Quelli che presentano parassiti, ma stanno bene, sono a un dipresso nelle stesse condizioni che si osservano nella malaria sperimentale, quando alle reinoculazioni segue

la comparsa dei parassiti senza o con poca febbre. Negli adulti della tribù dei Digo la densità dei parassiti è così bassa, che manca una intensa reazione splenica e la rigenerazione dei globuli rossi tiene passo alle perdite. Nei Nyramba, meno esposti alle punture, l'immunità è raggiunta in grado minore e più tardi nella vita. L'infezione dominante è il *falciparum* nel 40 % degli esaminati, il *malariae* dà l'11 % il *vivax* il 2 %. Il tempo necessario a raggiungere un grado notevole di immunità è nella tribù più costantemente infetta di pochi anni. È raggiunto, verosimilmente, quando il soggetto ha attraversate infezioni di tutti, più o meno, *gli stipiti locali*.

* * *

Nelle regioni malariche i bambini sono soggetti nuovi e non immuni delle popolazioni. Ma le cifre dei parassiti che abbiamo vedute nei bambini Digo sono tutt'altro che elevate, data l'esposizione così frequente ad infezioni malariche. Schwetz fa notare che i bambini nel Congo belga, pure fortemente parassitati non hanno febbre nè sintomi malarici. Sono anemici, esposti a subire danni maggiori da altre infezioni... e di quelle regioni si usa parlare come regioni di malaria apirettica. Qui interviene un grado notevole di immunità di razza, come si osserva nei negri negli Stati Uniti, che sono meno sensibili alla malaria, tanto che, per la cura della paralisi progressiva, il *Pl. vivax* è quasi stato abbandonato e sono curati col *falciparum*.

Nessuno dei miei collaboratori che ha studiato in Sardegna ha osservato casi di perniciosità nei bambini. E non è verosimile che nella vita fetale passino corpi protettivi dalla madre. Anche di donne, che sono mediocrementemente infette di *vivax*, sono impressionanti l'accumulo dei parassiti nella placenta, l'intensità delle reazioni fagocitarie.

Terapia. — Una diecina di anni or sono lo sviluppo delle conoscenze sull'immunità creò la preoccupazione che una cura pronta della malattia potesse interferire coll'acquisto dell'immunità: e parve antiquato chi non divisè questa preoccupazione. Intanto è dimostrato che la malattia curata o non curata dura lo stesso tempo. Unico è il caso in cui la cura pronta impedisce l'immunità. Ed è

quello dell'infezione del *Macacus rhesus* da *Pl. knowlesi*. Nel *rhesus* l'infezione è sempre fatale in 7 giorni, per minima che sia la quantità del materiale infettante. In questa infezione manca la distruzione non specifica dei merozoiti ad ogni sporulazione: lo sviluppo dei parassiti è così colossale che, grazie alla enorme massa parassitaria, sono state potute compiere importanti ricerche sierologiche di cui volentieri vi parlerei, se non fosse questa esposizione già troppo lunga. Se in questo animale, al primo apparire dei parassiti in goccia spessa, si comincia una cura intensa, lo sviluppo ne è impedito immediatamente o non c'è malattia. Una scimmia così curata, reinoculata dopo tre settimane, sviluppa un'infezione mortale; una recidiva è del pari fatale. È evidente che non possono da questi esperimenti trarsi conclusioni riferibili alla terapia della malaria umana, perchè manca nel *rhesus* la minima difesa naturale all'infezione, nè c'è tempo perchè si sviluppi immunità. Nell'uomo invece è considerevole la resistenza naturale che oppone alla malaria. Questi studi sull'infezione da *Pl. knowlesi* nel *rhesus* sono assai interessanti: ma per la malaria umana il problema di curare, o non prontamente ed a fondo, praticamente non esiste. E si presenta solo negli abitanti dei territori malarici, ed in questi, si può dire solo in casi come quello della tribù dei Digo nella quale esiste la possibilità di acquisto di un'immunità praticamente completa, quantunque, solo per parte della popolazione, corrisponda al postulato di Koch. Si è suggerito di limitare la cura ai soli bambini ed a quanto basta ad allontanare i danni o pericoli immediati della infezione acuta. Inutile preoccuparsi degli adulti. Soprattutto si insiste che siano evitate cure radicali, nel timore che queste possano impedire, o ritardare l'acquisto dell'immunità. Non è difficile comprendere che questo suggerimento non abbia finora avuto applicazione pratica. Ad accertare questa teoria sarebbe necessario un esperimento che durasse più anni. Ma al momento presente cure radicali non esistono e nei territori così gravemente infestati la cura della malaria sarà sempre un compromesso (*).

(*) (Da uno studio del dott. Sandicchi dell'Istituto di Malariologia non ancora pubblicato).

1) gli individui profilassati per tre anni con Atebrina non presentano dopo la sospensione

La *chemoterapia* si propone di ottenere la guarigione della malattia per mezzo di sostanze chimiche definite che agiscono direttamente e specificamente sull'agente morboso. I successi sono ben noti. Sono stati preparati rimedi che agiscono direttamente sulla cellula parassitaria: la prognosi di malattie contro cui era scarso il nostro potere è stata cambiata. Anche la malaria, che pure aveva il rimedio specifico in una sostanza chimicamente ben definita, ha avuto dalla chemoterapia rimedi di notevole importanza per il risultato raggiunto, poichè indipendenti da risorse naturali, e per interesse teorico. Come già detto, l'azione di queste sostanze è diretta verso il parassita, cioè a distruggerlo, o, a ogni modo, ad arrestarne lo sviluppo, la riproduzione. Se, oltre all'azione diretta, concorrono al risultato terapeutico, stimolati dal rimedio, i poteri di difesa dell'organismo, è stato oggetto di discussione. La quale va risolta nel senso che i detti poteri possono intervenire, secondariamente, quando l'azione terapeutica ha già agito sul microrganismo riducendone il numero, la vitalità, lo sviluppo, la riproduzione. Ma non sono stimolati dalla sostanza terapeutica per sè. La malaria è esempio di due azioni indipendenti l'una dall'altra. Lasciata a sé stessa guarisce (salvo eccezioni) spontaneamente, per il processo immunitario, che si stabilisce nel decorso della malattia indipendentemente dal rimedio, il quale ha azione sterilizzante immediata, che è costante anche nelle recidive. Quando, a malattia avanzata, agisce a dosi minori, spesso chiudendone il ciclo clinico e parassitario, ciò accade perchè agisce su parassiti, la cui vitalità è ridotta dal meccanismo immunitario, che si è andato sviluppando. Ma i due processi agiscono ciascuno per conto suo. Le prove che dimostrano l'azione diretta sono anche morfologiche. Anche ad esse va data importanza (alle alterazioni che si constatano immediatamente all'azione del chinino e dell'atebrina) nel giudizio

della profilassi infezioni più gravi e in percentuale più alta di quelli non precedentemente profilassati;

2) i tre anni di continuato trattamento profilattico associato alla pronta cura dei malati non sembrano menomare le condizioni di immunità verso l'infezione malarica acquistata dai soggetti soggiornanti in zona malarica, a qualsiasi età essi appartengano.

dell'azione diretta. Ma, indipendentemente da queste alterazioni, la dimostrazione ne è data da altri fatti, che non possono essere spiegati altrimenti. Solo con l'azione diretta si può spiegare la dipendenza dalla dose del risultato curativo. Una dose minima limite è indispensabile alla sterilizzazione, la quale, in qualche caso, ha bisogno delle dosi maggiori terapeutiche. Per talune infezioni che altrimenti sarebbero letali, come l'infezione da *Pl. knowlesi* del *M. rhesus*, l'azione sterilizzante è così rapida e completa che non viene creata nessuna reazione immunitaria. Ed, ad una reinfezione, l'animale risponde con una forma sempre letale in 7 giorni come è quella dell'animale nuovo. Se invece la cura è a dosi minori, la malattia decorre meno grave, si prolunga e si determina uno stato di infezione cronica, durante la quale si sviluppano anticorpi specifici, protettori.

L'azione diretta e specifica della plasmochina, che è debole sui parassiti del ciclo asessuale del *Pl. falciparum* a dosi abbastanza forti, distrugge a minime dosi i gametociti ben sviluppati e a dosi anche minori li devitalizza — contro di essi la chinina e l'atebrina sono senza azione — è dimostrazione di azione specifica e diretta. L'azione di un chemoterapeutico può manifestarsi in grado diverso tra razze vicinissime dello stesso parassita, dimostrazione anche essa di azione diretta elettiva. Ed è si può dire decisiva l'osservazione che, dopo introdotto un chemoterapeutico, la cellula parassitaria ne incorpora una quantità crescente arricchendosi, per così dire, del medicamento (Jançso per alcuni tripanosomi).

La prima fase dell'azione chemoterapeutica è che la cellula ancori la sostanza: tale condizione è necessaria. Al che intervengono affinità chimiche (chemorecettori) od anche condizioni fisiche, ma le prime prevalgono. Le razze di parassiti diventate artificialmente resistenti hanno perduto la capacità di ancorare il rimedio ed anche tutti i rimedi dello stesso gruppo.

Una sostanza fluorescente attiva su una razza di tripanosomi rende questi fluorescenti e i parassiti appaiono luminosi ai raggi ultravioletti. Ma se la stessa razza è diventata artificialmente resistente al rimedio, il campo del microscopio è oscuro. Il diventare resistente sembra sia dovuto ad un'alterazione della permea-

bilità, che è ereditaria, per la quale la facoltà di incorporare la sostanza è abolita o ridotta. Ma la cellula può incorporare anche sostanze inattive. L'atebrina rende le semilune fluorescenti, ma non le uccide; perchè la sostanza sia efficace, deve attaccare i processi vitali. Alla ricerca di questo meccanismo è rivolto lo studio moderno, il quale ha per scopo di mettere in rapporto la chemoterapia colla biochimica moderna del metabolismo cellulare.

È stato pensato che un chemoterapeutico possa spiegare la sua azione impoverendo il medio nutritivo della cellula. Per il metabolismo dei tripanosomi è noto da molto tempo che il glucosio è indispensabile: ed essi lo utilizzano formando prodotti acidi che, alla loro volta, in condizioni areobiche, prendono O_2 (Christophers, Fulton). L' O_2 è assunto in proporzione molecolare agli acidi formati e al glucosio consumato. Quando nel medio nutritivo per l'attività del parassita il glucosio è diminuito di una certa quantità, i parassiti perdono la mobilità, ma la riacquistano con un'aggiunta di zucchero, mancando la quale, muoiono dopo 15'. Quando fu riconosciuto che la sintalina ha potente azione tripanocida *in vivo* e *in vitro*, fu pensato da Jançso che fosse dovuta alla sua azione ipoglicemizzante. Ma, a determinare una riduzione di glucosio nel sangue, tale da produrre l'azione letale, sono necessarie dosi incompatibili coll'integrità del fegato e colla vita dell'ospite. Inoltre l'ipoglicemia sintalinica nell'animale normale è al di sotto di quella necessaria a uccidere i parassiti. Se si considera che l'insulina non è tripanocida e che l'azione della sintalina è in concentrazioni dell'ordine di quella degli arsenicali trivalenti (Yorke, Lourie) è necessario ammettere l'azione diretta sul parassita.

Jançso ha provato che l'acido monobromacetico può guarire l'infezione del sangue da tripanosomi: così si è riusciti, egli dice, per la prima volta a spiegare biochimicamente un'azione chemoterapeutica, poichè l'acido monobromacetico indubbiamente agisce sulla fase anaerobica fermentativa del ricambio dello zucchero dei tripanosomi perchè impedisce la formazione del trioso.

Dunque l'azione del veleno si esercita sul metabolismo cellulare. Appare da molte ricerche, tra cui lo studio dei fenomeni di *Interfe-*

renza (*) che il sistema respiratorio dei microrganismi sia punto importante di attacco dei chemoterapeutici. L'interferire con il meccanismo enzimatico respiratorio di un organismo può essere mezzo potente a produrre effetto letale. Seguendo questo concetto, Christophers e Fulton hanno rivolto il loro studio alla respirazione dei tripanosomi e dei parassiti della malaria e, per quello che riguarda questi ultimi, è risultato: 1) che i parassiti malarici prendono O_2 come i tripanosomi; 2) che nel loro processo respiratorio non entra il glucosio, quantunque il glucosio sia consumato nell'esperimento rapidamente; ma, dopo scomparso, non segue alcuna diminuzione nell'assunzione di O_2 . Nè i parassiti immagazzinano zucchero sotto forma di glicogeno; 3) che non c'è formazione di acidi e che il quoziente respiratorio è vicino all'unità (media 0,91: per i tripanosomi assai basso circa 0,1). Con particolari cautele è stata esclusa la possibilità che il consumo di O_2 possa dipendere dalla presenza dei leucociti e dei globuli rossi. Queste ricerche sono state rese possibili per l'abbondanza di materiale parassitario che fornisce l'infezione del *M. rhesus* da *Pl. knowlesi*. Lasciando questo materiale a sé stesso in tubo stretto, esso diventa scuro per trasformazione dell'OHb in Hb, ma scuotendolo riprende il colore. Da queste ricerche risultano dati sul metabolismo respiratorio dei tripanosomi e dei parassiti malarici. Per il metabolismo respiratorio dei tripanosomi gli Autori ammettono un ciclo corrispondente a cicli già noti (azione di deidrogenasi — conversione del glucosio in prodotti acidi che in condizioni aerobiche assorbono O_2). Il ciclo respiratorio dei parassiti malarici è ancora da chiarire. I tentativi di studiarlo sono disturbati dalla presenza dei globuli rossi che rendono difficile la constatazione di

(*) L'azione tripanocida di un rimedio può essere abolita da rimedi presi antecedentemente. È il fenomeno dell'interferenza. Tripanosomi trattati con parafucsina non subiscono più l'azione di rimedi altrimenti tripanocidi.

L'azione tripanocida di composti trivalenti di arsenico, di antimonio è soppressa, sia nell'animale, che *in vitro*, dall'intervento di sistemi ossido-riduttori. Tali sostanze diminuiscono la sensibilità dei tripanosomi al veleno, perchè, come accettori di idrogeno e catalizzatori, entrano nel processo ossidativo. Per ciò si dimostrano attivi a determinare interferenza sistemi coloranti che possono agire come catalizzatori respiratori; essi possono agire antagonisticamente, anche nell'avvelenamento della respirazione dei tessuti da cianuro.

enzimi ossidanti (ossidasi e deidrogenasi). Gli Autori fanno notare che l'assunzione di O_2 , la quale è stata presa come misura in questi esperimenti, può essere inibita da varie sostanze medicinali. Nei tripanosomi la inibizione va di pari passo coll'effetto letale. Non è ancora possibile affermare che tale inibizione è dovuta definitivamente ad azione enzimatica, ma, se si tiene conto dei dati e dei concetti espressi sopra, ciò è molto verosimile. Negli esperimenti le sostanze inibitrici agiscono a diluizioni, che sono dello stesso ordine di quelle della loro azione terapeutica. La chinina ed altre basi organiche hanno effetti inibitori sulle attività enzimatiche. E l'interferire nei meccanismi enzimatici della respirazione può essere mezzo potente per azione letale, come è dimostrato dall'azione del cianuro, che uccide istantaneamente in minime concentrazioni, abolendo i poteri respiratori delle cellule dei mammiferi.

* * *

I rimedi. — I rimedi principali sono in ordine storico la chinina, la plasmochina e l'Atebrin (*). Più tardi è stata preparata la certuna che ha azione simile a quella della plasmochina. Recentemente è rivolto interesse ai sulfamidici ed a prodotti del tipo della guanidina, quantunque quest'ultimi due ancora poco più che allo stadio sperimentale per la malaria umana. Ma lo studio dell'azione dei sulfamidici sulle scimmie è per suo conto di notevole importanza. Sulla tavola estratta da una conferenza fatta in Roma dal prof. Schullemann sono marcati in grosso gli anelli chinolinici a indicarne il gruppo comune a tutti e la sua importanza. Gli studiosi di Elberfeld hanno cominciato col bleu di metilene e il cammino è stato di attaccare catene laterali alifatiche a carattere basico alle combinazioni etero-cicliche, servendosi dell'azoto come ponte. Si rivolsero in seguito al gruppo chinolico. Le tre sostanze sono tutte derivate dalla 6 metoxichinolina che nell'atebrin è diventata acridina per l'aggiunta di un anello benzolico. Le catene laterali

(*) La plasmochina e l'atebrin, che rappresentano i primi prodotti antimalarici sintetici, hanno i loro corrispondenti in Italia rispettivamente nel gamefar e nell'italchina e chemi:chin.

MALARIA. della plasmochina e dell'atebrin sono identiche, come pure il carattere del ponte. La posizione delle catene laterali nell'anello è diversa nella plasmochina e nella chinina, ma è analoga nell'atebrin e nel chinino. Modificazioni che portano a modificazioni di intensità e qualità di azione.

* * *

Ricerche recenti di Yorke hanno dimostrato l'azione delle basi guanidiniche contro i tripanosomi e i parassiti della malaria: tra queste la « 1 : 2 normale undecano guanidina ». Molti sono i prodotti di questa serie, nella quale la catena alifatica nel mezzo della molecola può essere diversa ed anche può essere sostituita da gruppi aromatici, conservando, e a volte intensificando, l'azione. Nell'azione terapeutica di questi rimedi, cioè tanto di quelli del gruppo chinolinico, come degli altri, ha parte importante il carattere particolare di basi organiche che è comune a tutti. Ad esse è dovuta l'azione terapeutica non meno che all'anello chinolinico.

* * *

Inutile vi parli a lungo dell'azione di questi rimedi. La chinina, l'atebrin nei risultati immediati si equivalgono praticamente. È nota la rapida eliminazione del chinino. L'atebrin si elimina con lentezza. Una parte considerevole si accumula nel fegato e nella milza ove è distrutta. Alla terza settimana si ha ancora notevole fluorescenza nelle urine. A questa maggiore persistenza nell'organismo si ritiene sia dovuto il fatto che colla cura dell'atebrin, le recidive si allontanano. Così accade per alcuni stipiti di *Pl. falciparum* per i quali, dopo cessati col chinino gli attacchi, si ha quasi regolarmente recidiva, mentre questa manca con l'atebrina. I due rimedi sono schizonticidi per tutte le specie dei parassiti. Sono gametocidi solo per il *vivax*, *malariae* ed *ovale*, non per i gametocidi sviluppati del *Pl. falciparum*. Per questo parassita l'azione schizonticida della plasmochina è mediocre. Invece distrugge le semilune sviluppate, anche alle piccole dosi di due centigrammi al giorno. E basta solo un giorno di questa dose a renderle incapaci di svilupparsi nelle zanzare. Azione simile ha la certuna.

Se, dopo una cura con chinino o atebрина, si dà da plasmochina per due o tre giorni alla dose di 0,03, c'è ritardo nelle recidive specie per il *Pl. vivax*.

Nell'azione gametocida sta l'interesse principale della plasmochina, interesse che è per la specificità dell'azione e perchè questa si porta su forme che resistono agli altri rimedi.

* * *

I rimedi agiscono solo sul parassita sviluppato e solo sopra uno dei suoi cicli. Non esiste un rimedio che agisce sugli sporozoitii appena inoculati, un rimedio che realizzi quella che è stata chiamata *profilassi causale*, in contrapposto alla *profilassi medicamentosa*, detta *profilassi clinica* e che è una cura in anticipo. Le conclusioni del IV rapporto della Società delle Nazioni furono negative per la *profilassi causale* nel senso sopra esposto, almeno per quello che concerne il *Pl. vivax*. Per il *falciparum*, con uno stipite rumeno, fu impedito lo sviluppo della malattia in 18 individui, nessuno escluso, con dosi elevate di atebрина e di plasmochina, queste al limite della tossicità.

Le conclusioni del IV rapporto sono il risultato di una serie di esperimenti coi rimedi sintetici di James, Sinton e Shute. Sono riportati nella tabella qui annessa ad hanno importanza, indipendentemente dalla questione della *profilassi causale*. I rimedi sono stati somministrati in vario modo e in varie dosi, o il giorno avanti, o insieme alla puntura, o, dopo questa, per giorni e settimane. Solo in uno degli esperimenti col *Pl. vivax* (il 4° della tabella) tre soggetti furono indenni dalla malattia fino a due anni dopo l'inoculazione. Furono somministrati in questo esperimento dosi di 0,05 di atebрина *pro die* per 5 settimane; i soggetti di esperimento col *vivax* sono stati 21 di cui solo in 3, quelli dell'esperimento 4°, non si è sviluppata malattia. Ma in quasi tutti si è avuta una lunga incubazione, la quale, anche per la durata, è simile a quella che si ha in natura collo stipite olandese del *vivax*. Se si considera che ordinariamente la terzana non recidiva almeno nel 40 % dei casi, si può anche pensare che l'intera eventuale durata della malattia, nei tre casi rimasti indenni, sia decorsa in silenzio.

MALARIA. RISULTATI DI PROVE DI PROFILASSI CAUSALE CON MEDICAMENTI SINTETICI
 SOPRA SOGGETTI ESPOSTI ALLA INOCULAZIONE DELLA MALARIA
 PER PUNTURA DI ZANZARE (JAMES, SINTON SHUTE).

Specie del parassita	Numero dei soggetti	Medicamento e dose	Risultati immediati nei 90 giorni dopo l'inoculazione	Risultati lontani (durata dell'incubazione)
<i>Pl. Vivax</i> (stipite Madagascar)	5	gr. 0.3 di <i>Atebrina</i> al giorno per 6 o 7 giorni, dal giorno avanti quello dell'inoculazione	Nessun attacco malarico	Tutti hanno avuto attacchi dopo 3-8 mesi.
<i>Pl. Vivax</i> (stipite rumeno)	5	<i>Atebrina</i> gr. 0.6 di sera la vigilia dell'inoculazione e al momento di questa	id.	Tutti hanno avuto attacchi da 8 e mezzo a 16 mesi.
id.	3	<i>Plasmochina</i> 0.08 il giorno, avanti la inoculazione a sera e al momento di questa	1 attacco dopo 16 giorni	Due hanno avuto attacchi dopo 9-10 mesi.
id.	5	0.05 <i>Atebrina</i> al giorno per cinque settimane. Soggetti punti una volta per settimana, in tutto 4	Non attacchi	Attacchi in 2 dopo 2-8 mesi. In 3 nulla, 2 anni dopo la inoculazione.
id.	5	<i>Atebrina</i> 0.6 una volta per settimana per 5 settimane. Punti una volta alla settimana, in tutto 4	id.	Tutti accessi acuti dopo 9-10 mesi.
<i>Pl. falciparum</i> (stipite rumeno)	13	<i>Atebrina</i> 0.3 al giorno per 6-7 giorni o dal giorno avanti a quello della inoculazione	id.	Due morti di altre malattie pochi mesi dopo senza segni di malaria. 11 niente segni di malaria per 3 anni dopo l'inoculazione.
id.	5	<i>Plasmochina</i> 0.08 al giorno per sei giorni, dal giorno avanti l'inoculazione	id.	Niente malaria dopo 5 anni di osservazione.
id.	4	<i>Atebrina</i> 0.6 mezz'ora avanti l'inoculazione	Tutti con attacchi entro 3-14 giorni	

Lo stesso esperimento 4° ha dato un risultato che ha riscontro con la pratica della profilassi medicamentosa sul terreno. Insegna che, per la pratica di detta profilassi, è preferibile una piccola concentrazione efficace, ma costante, del rimedio. E, nella pratica sul terreno, si usano cgr. 20 due volte la settimana di atebtrin, dose sufficiente a mantenere una concentrazione efficace, data la lenta eliminazione dell'atebrin. La dose giornaliera di cg. 40

di chinino basta a impedire, durante il suo uso, la malattia. L'esperienza delle armate francesi in Macedonia è esempio classico di una profilassi efficace con queste dosi, purchè bene condotta. L'azione del rimedio alle piccole concentrazioni, come pure il risultato delle superinfezioni, sembra dimostrino *che il parassita all'inizio del suo sviluppo è sensibilissimo a condizioni avverse, siano queste dovute a un rimedio o alle azioni immunitarie.*

* * *

I risultati per il *Pl. falciparum* meritano considerazione. Naturalmente va fatta riserva riguardo allo stipite. Ma non può non fare impressione che su 18 soggetti in esperimento (di fatto 16, perchè 2 di essi morirono alcuni mesi più tardi, ma senza segni di malaria), in nessuno si sviluppò la malattia. Le dosi di atebriina furono intere dosi terapeutiche per 6-7 giorni. Quelle di plasmochina furono al limite della tossicità per 6 giorni, ossia per un numero di giorni al di là della fase negativa. È possibile che si sia trattato di una sterilizzazione totale come per l'infezione da *Pl. knowlesi* nel *M. rhesus*, quando questa è curata al primo apparire dei parassiti? O il rimedio ha devitalizzato il parassita al punto da determinare un decorso in latenza, per l'intera presunta durata della malattia? L'infezione da *falciparum* è, relativamente a quella da *vivax*, di breve durata, nè dà recidiva a distanza. Sarebbero necessari studi con altri stipiti, a sperimentare le condizioni immunitarie nei soggetti rimasti indenni.

I SULFAMIDICI. — Nel 1932 fu usata da Coggeshall la sulfanilamide nella cura della malaria da *Plasmodium Knowlesi* nel *M. rhesus*: la dose di un grammo data per bocca sterilizzava le infezioni acute da *Pl. knowlesi*. Altri sulfamidici sperimentati (Azosulfamide, Sulfapiridina, Sulfatiazolo, Sulfadiazina) si dimostrarono attivi, ma non ne fu studiata l'efficacia relativa. L'effetto sul *Pl. inoui* e sul *Pl. cynomolgi* fu solo temporaneo, perchè riapparve la malattia dopo un certo intervallo. Altri sulfamidici hanno avuto azione efficace, ma erano eccessivamente tossici. Il Diacetildiamino-difenil-sulfone fu provato nell'infezione del *rhesus* da *Pl. knowlesi* con risultato della sterilizzazione totale. Lo stesso fu ottenuto con un composto chia-

mato « Promin » (4-4' diamino-dinillsulfone N. N. destroso sulfonato). Una cura a dosi distanziate potè trasformare in cronica l'infezione acuta. La stessa sostanza dimostrò azione leggera, ma sicura, nell'infezione da *Pl. cathemerium* nei canarini. È efficace nell'infezione da *Pl. knowlesi*, *Pl. cynomolgi* e *Pl. inoui* nella scimmia rhesus. Questi risultati condussero a sperimentare l'azione della *Promin* sull'uomo (Coggeshall, Mayer - Best. settembre 1941), sia in soggetti curati per demenza paralitica (New York) che in casi di malaria contratti naturalmente, tanto in soggetti di razza bianca, che negri (zona del Canale di Panama). La *Promin* era già stata sperimentata senza accidenti tossici in 154 malati con infezione streptococcica. Altri esperimenti su casi di malaria contratta in natura furono eseguiti con la sulfadiazina. Diciassette malati acuti di malaria da *vivax* e da *falciparum* furono trattati con la *Promin*. Le infezioni da *vivax* si dimostrarono più resistenti che quelle da *falciparum* e le infezioni naturali nei residenti negri risposero più prontamente al rimedio che le stesse infezioni nei bianchi non immuni. Tredici malati di infezione da *vivax*, *falciparum* e *malariae* furono trattati con la Sulfadiazina (2 sulfamido piridina). Ci fu risultato evidente in 10 casi, non in 3. L'azione, quantunque accertata, fu meno efficace che con la *Promin*. Dalle osservazioni suddette risulta l'azione antimalarica di composti che non hanno relazione col chinino e l'atebrina. Naturalmente, l'uso di questi rimedi è ancora allo stato sperimentale. Ma è interessante che il parassita più virulento della malaria sperimentale come il *Pl. knowlesi* nel *M. rhesus*, sia più facilmente distrutto, che non le specie meno virulente. Allo stesso modo che stipiti di streptococchi virulenti sono inibiti nel loro sviluppo dalla sulfanilamide, più che stipiti meno virulenti. Nell'uomo l'infezione da *falciparum* ha resistito meno alla *Promin* che l'infezione da *vivax*.

RIASSUNTO

È la conferenza tenuta all'Accademia Medico-Fisica Fiorentina il 20 giugno 1941-XIX. In essa l'A. fa una sintetica e completa esposizione delle più recenti acquisizioni sull'infezione malarica e particolarmente delle nuove conoscenze sul parassita, sulle zanzare vettrici, sull'immunità e sulla terapia e profilassi medicamentosa.

97938



Esemplare fuori commercio
la distribuzione agli effetti
legge.

