

19. IMMUNIZZAZIONE CONTRO LA MALARIA (*).

Minerva saltò dalla testa di Giove di colpo, perfetta e armata. Può essere che questo sia lo stile olimpico. Ma su questa terra una scoperta scientifica quasi mai nasce intieramente finita. Nelle idee dello scienziato si fissa un concetto e poco a poco progredisce fino che domina tutti i suoi pensieri. Lo scienziato comincia a sperimentare, ad allargare le indagini in campi affini. La mèta è riconosciuta chiaramente, ma ahimé! quante difficoltà, quanti errori, quante delusioni prima che la via più diretta e semplice venga trovata!

Nella conferenza che tenni due anni fa in quest'aula potei annunciare che ero riuscito ad immunizzare un uomo contro alte dosi di schizonti della malaria terzana. Questo accenno, accolto con viva attenzione dal Direttore di questo Istituto prof. Marotta e dal Capo del Laboratorio di Malariologia prof. Missiroli, fu l'incentivo che consentì di continuare le mie ricerche in Italia. Nel luglio del 1938, autorizzato e presentato dal Direttore Generale della Sanità prof. Petraghani, mi recai a Siena nell'Ospedale San Nicolò, diretto dal prof. d'Ormea, dove cominciai le indagini. A tutti i colleghi nominati esprimo la mia sincera gratitudine per il loro giudizio profondo e l'aiuto datomi. Una parola di lode speciale devo dire alla Signorina Caciagli, assistente tecnica, per la sua collaborazione sempre pronta ed efficace.

Nella conferenza presente voglio dare in primo luogo un resoconto delle mie ricerche eseguite nell'anno scorso. Una discussione estesa sui diversi punti di vista teorici e pratici sarebbe prematura ed oltrepasserebbe i limiti di una conferenza. I dettagli saranno pubblicati nei Rendiconti di questo Istituto.

Che una immunità contro la malaria possa ottenersi, è provato dal fatto che in un terreno p. e. tropicale, dove ogni straniero s'ammala, gli indigeni vivono senza attacchi febbrili e sembrano stare in buona salute.

(*) Lezione tenuta nell'Istituto il 9 giugno 1939-XVII.

Non potrebbe essere così se gli indigeni, nati e cresciuti nel focolaio malarico, non acquistassero una resistenza solida contro l'infezione malarica.

Quest'immunità è concatenata con uno stato d'infezione latente, chiamato « premunizione ». Accanto a questo stato di premunizione ne esiste ancora un altro, d'immunità attiva, senza infezione latente, che si sviluppa dopo un'infezione o guarita spontaneamente o trattata con chinina. In questo stato il corpo è libero di parassiti malarici, è un'immunità sterile. La scoperta di von Wagner-Jauregg che la paralisi progressiva viene influenzata favorevolmente da attacchi malarici, ha dato la possibilità di studiare anche lo sviluppo dell'immunità nel decorso dell'infezione malarica: gli accessi febbrili stimolano l'organismo dell'ammalato a formare anticorpi, sostanze che distruggono i parassiti. Questi anticorpi sono stati dimostrati da diversi autori, in un modo incontestabile dal mio assistente Neumann nell'uomo e da Mosna anche nelle scimmie, nel Laboratorio di Malariologia di questo Istituto. Gli esperimenti di numerosi autori dimostrano che l'immunità prodotta dalla schizogonia possa resistere non solo contro una nuova iniezione di schizonti (forma asessuale del parassita nel sangue), ma anche contro l'infezione da punture di zanzare infette. Ciùca per es. ha trovato in Romania il 34 % d'immuni. Dopo le mie esperienze dell'anno scorso (6 casi) posso confermare questi risultati degli altri malariologi: l'esistenza di una immunità contro la malaria è fuori dubbio.

La natura arriva all'immunizzazione delle popolazioni indigene delle zone malariche tropicali attraverso una prodigalità terribile di vite umane: la mortalità dei neonati per malaria è enorme, arriva al 30 % e più. Arrivare ad una immunizzazione profilattica ma senza tali perdite era la mia intenzione fin dalla mia prima attività in Africa nel 1898.

Esperimentando coi parassiti della malattia del sonno e della mosca tsetse, coi trypanosomi, io ho dimostrato che si può iniettare in un animale suscettibile p. e. un vitello, un piccolo numero, contato di parassiti, p. e. 40 trypanosomi, senza produrre la malattia mortale.

Su questo reperto ho fondato un processo d'immunizzazione contro la malattia di tsetse del bestiame, che nel 1933-35 ho messo alla prova nel Tanganyika, prima colonia tedesca adesso mandato inglese in Africa orientale. Pochi giorni fa ho ricevuto un rapporto ufficiale del quale risulta che degli 11 vitelli inoculati nel 1934 con il mio metodo di iniezioni minimale,

6 vivono in buona salute, dal 1934 ad oggi sempre in un territorio infestato dalla mosca tsetse. Il Director of Tsetse reseach scrive che questo risultato conferma la mia pretesa sulla efficacia del mio metodo. L'importanza di questa conferma del risultato di un esperimento continuato 5 anni, anche per le colonie italiane in Africa, esporrò in un'altra pubblicazione. Qui l'ho menzionato perchè era il fondamento degli esperimenti che descriverò oggi.

Applicando questo reperto sulla malaria umana, ho trovato nel 1937 che si possono iniettare circa 100 schizonti o sporozoiti ad una persona sana — a me stesso — senza produrre febbre e senza che appaiano parassiti nel sangue. Esiste anche nella malaria umana una resistenza minima, è vero, ma fondamentale. Come conseguenza logica di questi fatti si poteva domandarsi: E' possibile con inoculazioni ripetute di parassiti della malaria, produrre un aumento di questa resistenza fondamentale minima fino all'immunità, senza produrre la malattia con febbre e parasitemia? Se un tale stimolo delle potenze difensive dell'organismo potesse essere prodotto sperimentalmente, s'aprirebbero prospettive in due direzioni:

Primo: sarebbe non escluso che la paralisi generale potrebbe essere influenzata senza esporre il paralitico all'effetto sempre nocivo della febbre, dell'anemia ecc. Ciascun medico che ha seguito l'effetto di dodici e più accessi di 40 o 41 gradi su un paralitico già indebolito dalla sua malattia, capisce quale vantaggio avrebbe un trattamento malarico senza produrgli la febbre.

Si obietterà: ma la febbre è l'agente essenziale della malaria terapeutica! Finora questo non è provato. Io vedo l'agente essenziale nella reazione dell'organismo; la febbre è un sintomo, l'aumento della resistenza è un altro, un altro l'anemia. Basteranno queste reazioni afebrili per influenzare lo sviluppo della paralisi generale? questo è il problema. La soluzione sembra essere molto semplice: curare un paralitico con parassiti malarici vivi, cominciando con numeri minimi di plasmodi, aumentando poco a poco, ed osservare l'effetto. Io credevo non essere autorizzato di raccomandare tale prova al medico responsabile: la paralisi generale progressiva è una malattia quasi sempre mortale. Il paralitico ha un diritto di essere curato col metodo più fidato ed al più presto possibile. Perciò prima ho provato l'efficacia del metodo progressivo contro altre

malattie mentali non tanto pericolose. I dettagli del metodo pubblicherò fra poco in esteso nei « Rendiconti » di questo Istituto. Qui basterà accennare i fondamenti del metodo: si contano i parassiti (schizonti o sporozoit) in una quantità misurata di sangue o di emulsione delle ghiandole salivari di una zanzara infetta, si diluisce con una soluzione indifferente, si calcola il numero voluto e si inietta questo numero sotto la cute. Per esempio gli ammalati N. 45, 46 e 47 hanno ricevuto per prima iniezione 750, rispettivamente 1000, risp. 1250 schizonti; con le seguenti 3 iniezioni furono aumentati le dosi fino a 50 000, 60 000 e 80 000 schizonti senza mai produrre febbre. Un controllo, N. 49, iniettato una volta con 1000 schizonti, dopo un tempo d'incubazione prolungato ha sviluppato una terzana tipica, ma guarita spontaneamente dopo 6 accessi. Questi esperimenti (12 casi) dimostrano che l'aumento della resistenza contro schizonti può essere prodotto senza febbre; la reazione immunitaria dell'organismo non è legata ad una reazione termica. Dopo queste prove credo che una clinica psichiatrica sarebbe autorizzata di provare questo metodo innocuo, iniezioni progressive di sangue con schizonti, anche per la terapia della paralisi generale. Se durante la vaccinazione, aumentando troppo presto la dose, arriverebbe un attacco di malaria, la situazione sarebbe la stessa che col metodo usuale.

L'effetto di tali iniezioni praticate da me in ammalati sofferenti di altre malattie mentali, sarà descritto in una pubblicazione separata dal Dr. Centini, medico del reparto di Clinoterapia all'Ospedale di San Nicolò a Siena; posso dire intanto che nessun ammalato era danneggiato dalla vaccinazione.

Come seconda conseguenza dei miei esperimenti s'aprì la prospettiva verso una possibilità di una *immunizzazione innocua* contro la malaria. Se l'organismo umano reagisce all'introduzione di un antigene — così si chiamano le sostanze, per lo più di natura albuminea, che introdotte nell'organismo vivo producono reazioni specifiche nel corpo — collo sviluppo di un'immunità, ma non con febbre, una immunizzazione artificiale senza reazione febbrile dovrebbe pur essere possibile. Potei dimostrare anche questo, ma la via per questa meta era lunga.

Il primo passo fu una delusione: quando applicai zanzare infette alle persone immunizzate con schizonti, l'infezione seguiva sempre. Questa osservazione — immunità contro gli schizonti, ma non contro gli sporo-

zoiti — è molto interessante. Gli schizonti rappresentano quasi un binario morto, sterile, senza continuazione, mentre gli sporozoiti che si sviluppano nell'anofele, sono il prodotto di un ciclo sessuale e continuano la specie del parassita. E' comprensibile che tale differenza di sviluppo rechi anche una differenza nella costituzione chimico-biologica, una differenza del potere antigene. Per quanto io sappia questo è il primo esempio di cambiamento della funzione antigenica durante il ciclo di sviluppo di un parassita.

Ma questo risultato negativo non era sorprendente: due anni fa nella mia conferenza ho detto che « siccome l'uomo non viene infettato con schizonti ma bensì con sporozoiti, sarà ora necessario tentare l'immunizzazione graduale con gli sporozoiti contati ».

Era naturale che ho cominciato ad iniettare sporozoiti in piccole dosi a persone sane. A Berlino 12 persone, compreso me stesso, studenti di medicina, si sono messi volontariamente a mia disposizione. A 7 di questi volontari iniettai 200-1600 sporozoiti sotto la cute, senza produrre febbre e parassitemia; ma raddoppiando le dosi le infezioni scoppiarono in tutti. Già questo primo esperimento dimostrava che l'iniezione di sporozoiti conduce molto più facilmente ad un'infezione che non l'iniezione di schizonti. Quella è la via naturale dell'infezione, questa una via artificiale, che non accadde mai in natura. A Siena ho vaccinato 12 persone con sporozoiti. Il risultato può essere riassunto in tale maniera: in dosi piccole, non infettanti, gli sporozoiti hanno un effetto immunizzante molto debole; se si oltrepassa il limite per poco, segue la febbre e parassitemia. Durante la vaccinazione di 12 persone, 9 furono infette. Tali sbagli indesiderati, ma inevitabili nei primi esperimenti, si potranno evitare in futuro. Che gli sporozoiti nondimeno abbiano un certo effetto come antigene, è dimostrato p.e. dall'ammalato N. 23, che esposi dopo la vaccinazione con sporozoiti alla puntura di anofeli infetti. Mentre un altro malato vaccinato punto da anofeli dello stesso gruppo, nello stesso giorno presentava febbre tipica e parassiti 14 giorni dopo la puntura, l'ammalato N. 23 s'ammalò dopo 91 giorno d'incubazione con pochissimi parassiti nel sangue e con febbre irregolare. Io vedo in questo ed in altri simili fatti un'indicazione che la facoltà immunizzante degli sporozoiti sia debole, ma nondimeno presente.

In quest'occasione mi sembra necessario d'insistere che il processo d'immunizzazione è influenzato non solo dalla qualità dell'antigene, ma anche da parecchi altri fattori, e cioè primo dalla reattività dell'uomo a vaccinarsi. I malati N. 21 e 22 hanno ricevuto, come N. 23, dapprima 50, poi 100 e anche 200 sporozoit; N. 21 e 22 s'infettarono dopo questa dose, N. 23 invece no. Potrei aggiungere molti esempi di reattività individuale; basti dire che il mezzo d'aiuto più favorevole sarebbe un metodo per misurare la recettività individuale. Gli esperimenti eseguiti finora non hanno dato risultati definitivi, ma indicano una possibilità sfruttando la sensibilità ben nota della cute verso il veleno delle ghiandole salivari delle zanzare.

Un secondo fattore è una infezione malarica precedente. La malaria è ancora frequente in Italia, più ancora nelle colonie tropicali. Non si sa finora quanto tempo rimane l'effetto immunizzante di un attacco. Il Dott. Centini, in collaborazione col Prof. De Nunno, ha iniettato con sangue malarico (10 ccm. nella regione infrascapolare) 20 soggetti che precedentemente a distanze di circa due anni erano stati sottoposti a terapia malarica semplice od associata a stimolazione del sistema reticolo-endoteliale. In genere non si è avuto il nuovo attecchimento dell'infezione. In qualche caso solo qualche lieve rialzo termico sui 37°. In tre casi un accesso rispettivamente dopo 13, 22, 30 giorni. Solo in due casi tre e quattro accessi rispettivamente dopo 10 e 11 giorni. Dunque non-immunità in 5 casi, uguale a 25 %. In tutti questi casi vi è stato esaurimento spontaneo dell'infezione senza alcun sussidio terapeutico. Il Mosna poté riinfettare 2 da 5 malati con lo stesso ceppo 20 a 22 mesi dopo la prima infezione. E' sicuro che anche in questo punto esistono grandi differenze individuali. Degli ammalati d'un manicomio pochi solo possono dare dati abbastanza sicuri sugli attacchi malarici anteriori. Reazioni, come per esempio la reazione dei tubercolotici alla tubercolina di Koch, non sono conosciuti nella malaria; la reazione di Henry dà una misura approssimativa delle globuline del siero, ma come tale non è abbastanza specifica. Considerata la diffusione larghissima della malaria nel mondo, nella valutazione dei risultati di tutti gli

esperimenti dobbiamo sempre tenere conto di questo fattore. Come questo stato endemico della malaria possa essere non sfavorevole dal punto di vista pratico per una vaccinazione antimalarica, esporrò più tardi.

Un altro fattore: in luglio 1938 potei infettare un malato colla puntura di un solo anofele; in dicembre 1938 tre anofeli infetti non bastarono per infettare un altro uomo, occorreva mettere 5 zanzare infette per produrre la malaria. Una dipendenza dell'infettività degli anofeli dalla stagione già era stata osservata da Boyd e collaboratori. Ho continuato ad applicare sempre 5 anofeli infetti, siccome questa « dose » è certamente infettante ma sembrerebbe non troppo forte.

In quanto alla tecnica delle iniezioni non voglio entrare in dettagli, sebbene un punto molto minuzioso, è vero, mi sembra pure abbastanza importante per essere almeno accennato. Una zanzara pungendo spinge il pungilione, l'ipofaringe, attraverso la cute ed il tessuto sottocutaneo, e frattanto vuota la saliva cogli sporozoiti. Nel momento in cui essa trovi un capillare, il sangue entra nel pungilione e la corrente va nel senso inverso. Ho pensato d'introdurre l'antigene, gli sporozoiti, non come sempre sotto la cute, ma direttamente nel sangue, per via endovenosa. L'unico caso finora abbastanza avanzato dimostra che per via endovenosa si può progredire presto colle dosi di sporozoiti: l'ammalato N. 67 il 21 marzo 1939 ha ricevuto la prima dose di 100 sporozoiti, poi 500, 2500 ed il 20 maggio 8000 sporozoiti, sempre nelle vene, senza produrre febbre finora. Altri esperimenti sulla stessa linea sono in corso.

Ma non voglio esporre a voi un piano di lavori futuri, voglio rendere conto delle ricerche eseguite finora.

Vedendo che non è difficile produrre un'immunità contro gli schizonti, mentre è difficile stimolare l'organismo con sporozoiti ad una reazione immunitaria senza produrre febbre, mi venne l'idea, se non si potesse utilizzare quest'immunità anti-schizontica come immunità basale ed aumentarla con seguenti iniezioni di sporozoiti. Tre uomini, N. 29, 30 e 32 erano stati vaccinati fino a sopportare 27.600, 27.600 e 32.00 schizonti; poi cominciai ad iniettare sporozoiti; in uno (N. 29) scoppiò l'infezione con la quinta iniezione di 1.200 sporozoiti, gli altri due con 4

e con due iniezioni non furono infettati. Finalmente ho fatto succhiare anofeli certamente infetti da queste due persone: uno (32) s'ammalò tipicamente, l'altro restò senza febbre e senza parassiti fino ad ora, cioè 3 mesi. Con questo esperimento è provato, per quanto che io sappia, per la prima volta, che *si può produrre un'immunità contro l'infezione malarica inoculata per zanzare infette, senza produrre febbre.*

Ma non basta approvare che un tale risultato possa essere raggiunto; occorre esaminare le ragioni perchè in un esperimento si ha successo, in un altro solo parzialmente, in un terzo nessuno.

A tale scopo mi sono domandato di nuovo, se i miei esperimenti siano in accordo esatto col metodo che la natura impiega per immunizzare gli indigeni dei paesi caldi. Laggiù già i neonati vengono infettati, s'ammalano, molti muoiono, i superstiti dopo molti attacchi e superinfezioni acquistano l'immunità per premunizione o per sterilizzazione. Sui dettagli del processo dello sviluppo di tale immunità poco è conosciuto. Nei miei esperimenti c'erano 5 persone, gli accessi dei quali erano troncati con chinina. Reinoculati con anofeli rispettivamente 72, 88 e 144 giorni dopo l'ultima dose di chinina, due (N. 31 e 48) s'infettarono, uno (32) no. Altri 6 malati guarirono spontaneamente; 4 di questi erano esposti alle punture di anofeli infetti, uno s'infettò 31 giorni dopo la scomparsa della febbre, tre no. Sembra che in questi pochi casi la guarigione spontanea abbia avuto un migliore effetto immunizzante. Ma questi esperimenti dimostrano inoltre che si può reinfettare persone già 31 giorni dopo la scomparsa della febbre e dei parassiti. Che le reinfezioni non erano recidive, era dimostrato dal reperto del sangue (assenza di gametociti). Lo sviluppo dell'immunità dopo un solo attacco è incerto e spesso debole; per sviluppare una immunità solida occorre passare parecchi, probabilmente molti attacchi, come fanno gli indigeni dei paesi caldi — un processo pericoloso, come ho dimostrato!

Ho vaccinato dopo con sporozoitì degli ammalati che hanno passato un'attacco; uno (N. 20) era infettato dalla terza iniezione, ma dopo 2 accessi guarì spontaneamente, mentre gli altri due (N. 22 e 25) non furono infettati dagli sporozoitì. Uno di loro (N. 25) resistè anche alle punture

di 5 anofeli, mentre il N. 22 fu infettato dopo incubazione prolungata. Questo esperimento mi sembra importante specialmente perchè dimostra che l'immunità sviluppata dopo un solo attacco può dare una base sufficiente per una vaccinazione con sporozoi.

Quest'ultima osservazione mi porta allo scopo pratico delle mie ricerche: *la vaccinazione contro la malaria*. La morbosità da malaria in Italia è molto differente nelle varie provincie: mentre nel 1935 nel Lazio furono denunciati dagli ufficiali sanitari 2 casi di malaria per mille abitanti, in Sardegna furono denunciati 64 casi per mille abitanti. In tutta l'Italia nel 1935 furono notificati 163.000 casi di malaria. Mentre nelle regioni tropicali le infezioni ripetute ininterrottamente durante tutte le stagioni o uccidono l'ammalato o producono una immunità sufficiente, in Italia l'inverno, in cui gli anofeli non pungono che eccezionalmente, interrompe questo processo; una persona che ha superato un attacco malarico in quest'anno, può essere infettata di nuovo nell'anno prossimo. Se fosse possibile consolidare la resistenza rimanente dopo un attacco e di rialzarla durante l'inverno per qualche iniezione di sporozoi, potrebbe dare dei vantaggi considerevoli. Penso che un uomo che ha sentito la scossa di un attacco di malaria, sarà facilmente persuaso che è necessario continuare la sua cura; ed una madre che ha visto come il suo ragazzo soffriva della febbre, consentirà volentieri ad un trattamento prolungato. Importanza decisiva avrà l'organizzazione di tali procedimenti.

Ma ancora più importante mi sembra la possibilità d'una vaccinazione *preventiva*. L'ultima metà sarà una vaccinazione o ai neonati o nel primo anno di vita. Alla mortalità dei ragazzi, nei primi anni di vita, la malaria contribuisce in un grado non facile a determinarsi, ma certamente molto alto, nel 1932 per es. più alto che la difterite. Non sarà facile introdurre come regola una vaccinazione antimalarica simile a quella antivaaiolosa, anche se è innocua, non dolorosa e gratuita. Ma col successo verrà la popolarità, come si è osservato dopo la introduzione della cura della splenomegalia (Leishmaniosi) col tartaro stibiato.

Fino a questa metà è ancora una lunga via. Siccome i miei esperimenti sono i primi eseguiti con tale proposito e con tali metodi è naturale

che lascino una quantità di problemi da risolvere. Quanto tempo durerà l'immunità prodotta sperimentalmente? Si può produrre una immunità anche contro la febbre estivo-autunnale che ordinariamente è più grave che la terzana colla quale ho lavorato io? L'immunità contro un ceppo di parassiti è attiva anche contro altri ceppi locali? Ma tali questioni possono essere risolte per esperimenti. Sono lieto di poter annunciare che i miei esperimenti non saranno abbandonati dopo il mio ritorno in Germania, ma saranno continuati qui in Italia con la collaborazione del Laboratorio di Malariologia di questo Istituto.

Mi chiamerò felice, se le mie indagini saranno utili all'Italia che io ammiro ed amo.

