

## 14. OSSERVAZIONI SULL'ALLEVAMENTO DEGLI ANOFELI.

Dato il sempre crescente numero dei laboratori nei quali si allevano anofeli per la malarioterapia della paralisi progressiva, la pubblicazione delle nostre esperienze sarà utile ai colleghi che si occupano di questo lavoro.

Gli *Anopheles maculipennis* var. *atroparvus* usate da noi vengono dall'allevamento dell'Ospedale Santa Maria della Pietà di Roma; il Dott. Mosna, assistente nell'Istituto di Sanità, Laboratorio di Malariologia, che mantiene questo ceppo di origine italiana, ha fornito a me alla fine del luglio 1938 diverse deposizioni fresche di uova, che trasportai su carta bibula umida in piccole provette da Roma a Siena, dove disposi l'allevamento in una stanza dell'Ospedale San Nicolò gentilmente messa a disposizione dal direttore Prof. d'Ormea.

L'allevamento cominciò con una delusione: l'acqua della condotta di Siena è tanto povera di sali che le larve uscite dalle uova non si sviluppavano oltre il secondo stadio. Nel giardino del Manicomio c'è un piccolo rigagnolo che scorre lentamente; l'acqua di esso, dopo filtrazione per carta, fornisce un buon mezzo di allevamento. L'acqua venne distribuita in vasi di terra scura verniciati (tegami comuni, 30 cm. di diametro, 10 cm. d'altezza). Siccome una temperatura di 22-25° C. è la più favorevole per lo sviluppo delle larve ecc., abbiamo improvvisato un termostato costituito da una vasca (65 × 65 × 15 cm.) di ferro zincato ripiena d'acqua (7 cm. d'altezza) collocata su un supporto di legno (65 × 65 × 13 cm.). Alle quattro pareti interne della vasca furono montate quattro lampade elettriche a filo di carbone. Accendendo o spegnendo le lampade si può regolare la temperatura del termostato; 2-3° C. di differenza non importano. Ma quando verso il Natale 1938 la temperatura nella stanza cadde all'improvviso a 4°, questo apparecchio non fu più sufficiente allo scopo e le larve di III e IV stadio morirono tutte, mentre quelle di I e II stadio sopravvissero. La nostra stanza è situata verso oriente, mentre sarebbe stato più favorevole avere una stanza verso mezzogiorno per poter esporre le



larve al sole per parecchie ore del giorno. Come nutrimento diamo Piscidina, una polvere fabbricata di Dafnie seccate; la polvere sparsa sull'acqua, deve distribuirsi in tutta la superficie, mentre se l'acqua è inquinata o da muffe o da batteri, la polvere non si spande. Allora occorre cambiare l'acqua e pulire bene i recipienti, magari con acqua bollente; si levano le larve con una pipetta con un'apertura di 6-7 mm. Occorre anche cambiar l'acqua se si sono formati in fondo fiocchi mucilluginosi di microbi che

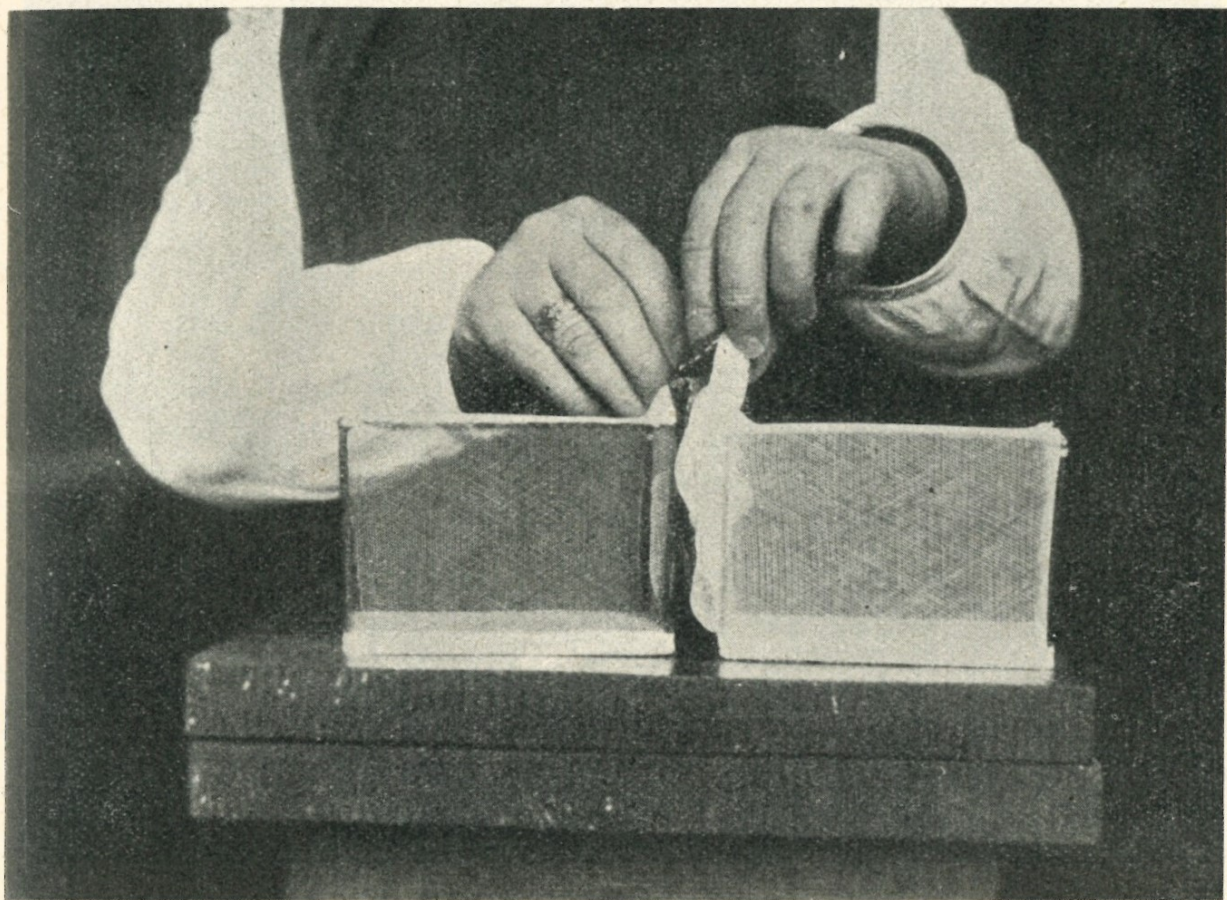


FIG. 1.

tengono ferme e soffocano le larve. Abbiamo osservato che tali depositi si formano più presto in vasi bianchi che in scuri.

Quando le ninfe appaiono, si tolgono ogni mattina colla stessa pipetta e si mettono in piccoli vasettini (bicchierini) dentro una gabbia grande. Occorre dare alle zanzare la possibilità di volare, perchè in una gabbietta piccola la fecondazione non è assicurata. La struttura della gabbia grande ( $54 \times 35 \times 40$  cm.) corrisponde a quella delle piccole gabbiette (vedi oltre), le pareti sono costituite d'una rete metallica fina, in una parete è un foro rotondo (diametro 20 cm.) e in questo è fissata una ma-



nica (50 cm. di lunghezza). Abbiamo osservato sempre che prima nascono i maschi; le femmine, nate dopo, sono quasi sempre meno numerose che i maschi. Le femmine si lasciano in contatto coi maschi per due giorni; dopo si catturano con un catturatore fatto di un tubo di vetro (lungo 50 cm., spesso 12 mm.), ad una estremità del quale è attaccato un tubo di gomma; si introduce il tubo di vetro nella gabbia e vi si aspirano le zanzare una a una. Per evitare che con l'aspirazione le zanzare arrivino in

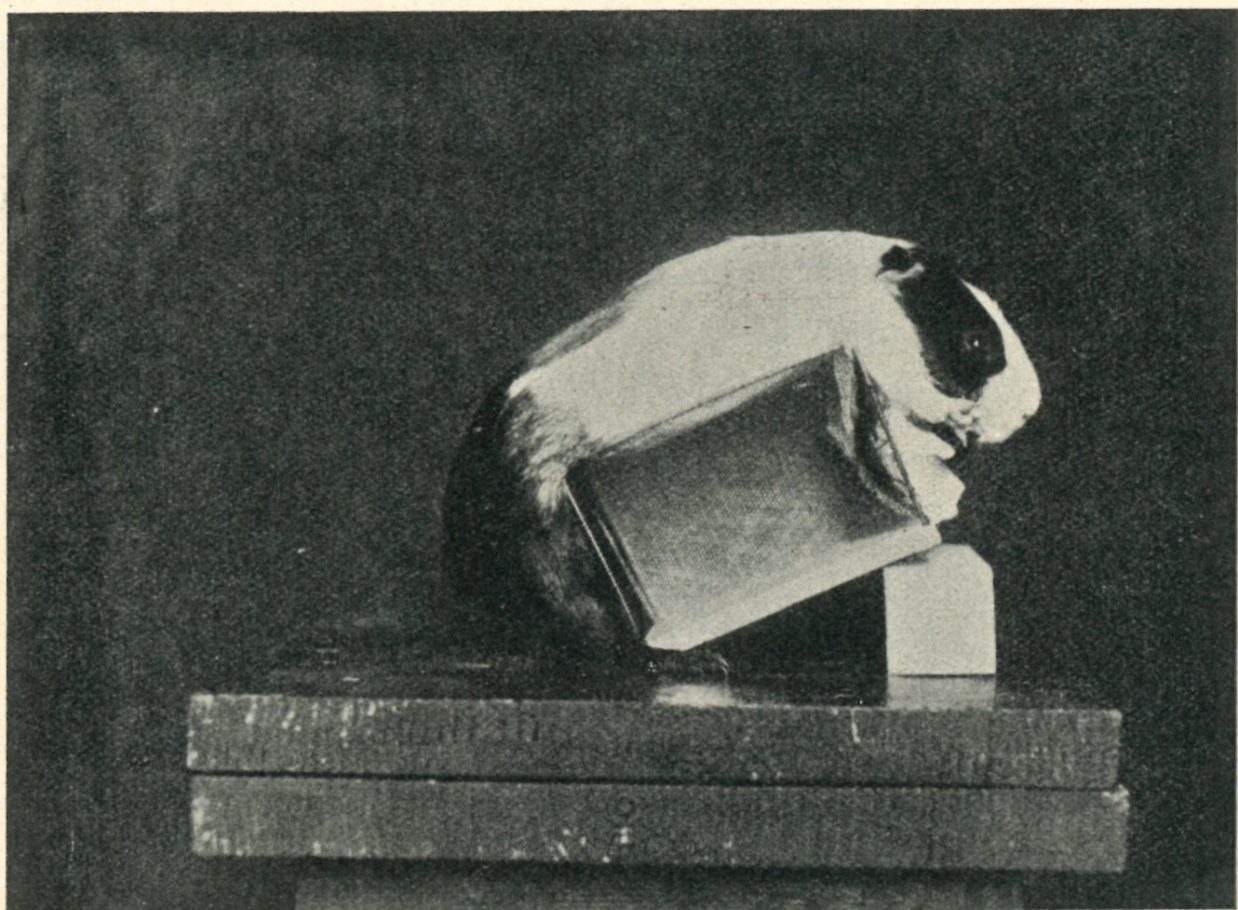


FIG. 2.

bocca, un piccolo tubetto chiuso da un pezzetto di velo è messo nel tubo grande nel punto di congiunzione col tubo di gomma. Le femmine sono soffiate in una piccola gabbietta, i maschi si lasciano morire nella gabbia grande.

Le gabbiette piccole (fig. 1), costruite nell'officina del Manicomio, hanno un fondo di legno (11,5 × 8 cm.); l'armatura è fatta in filo d'ottone, sono alte 8,5 cm., le pareti sono parte in nero parte in bianco di velo; a seconda della illuminazione le zanzare si vedono meglio da un lato o dall'altro. Ad una delle pareti strette è fissata una manica di velo lunga 15 cm.



In queste gabbiette le femmine sono tenute dopo la fecondazione e nutrite con sangue di cavia: si mette la gabbietta un poco inclinata e ci si pone sopra una cavia col ventre rasato (fig. 2). L'animale resta quasi sempre senza muoversi, persino se pungono dozzine di zanzare. Se le zanzare hanno fame, pungono subito e si può prendere la cavia dopo 5 minuti e metterla sopra un'altra gabbietta. (Anche i maschi tentano di pungere, ma mai riescono a prendere sangue. Perchè ciò?). La nutrizione deve essere giornaliera.

Per avere le uova si mettono parecchie femmine in una gabbietta il cui fondo è coperto di uno strato spesso di carta bibula fortemente inumidita; quando le uova sono depositate, si toglie la carta e si immerge in acqua, le uova si staccano facilmente e vengono alla superficie. Si ricomincia il ciclo.

Per infettare gli anofeli o per infettare un paziente, si mette la gabbietta tra le gambe; nel primo caso si sceglie un ammalato con molti gameti nel sangue. La presa del sangue dura 5 minuti solo; ad ammalati inquieti bisogna spesso anche legare le gambe. L'irritazione delle punture si può mitigare con qualche unguento.

Le gabbiette colle femmine nutrite sono messe in termostato. Anche questo fu fabbricato nell'officina del Manicomio; è un armadio di legno ( $73 \times 45 \times 64$  cm.); nell'interno, a 6 cm. dal fondo, sono situate 4 lampade elettriche con filamento di carbone, mediante queste si può regolare la temperatura e mantenerla a  $25^{\circ}$  C.

Gli anofeli infetti è necessario siano nutriti ogni due giorni e tenerli in termostato dai 10-12 giorni; dopo tale tempo appaiono gli sporozoiti nelle ghiandole salivari. Il ceppo « Madagaskar », trovato da James e suoi collaboratori, è usato anche da noi e dà quasi il 100 % di infezioni. Dopo 12 giorni si mettono le gabbiette con gli anofeli infetti in frigorifero ( $10-15^{\circ}$ ) senza nutrirli. Crediamo avere provato che gli sporozoiti degenerano dopo 30 giorni e scompaiono dalle ghiandole dopo 45 giorni.

E' essenziale mantenere l'ambiente delle zanzare sempre molto umido; la gabbia grande e le gabbiette piccole nel termostato o nel frigorifero occorre siano tenute ben coperte con panni umidi.

Tra l'agosto 1938 e il febbraio 1939 i singoli stadi duravano: dal pasto di sangue fino alla deposizione di uova 4-6 giorni (massimo 11



giorni); fino alla nascita delle larve 2-4 (10); fino allo sviluppo delle ninfe 9-14 (21) e fino alla comparsa degli adulti 2 (6) giorni.

L'allevamento richiede attenzione accuratissima e osservazione anche delle minime irregolarità.

Ringrazio la Sig.na Angelina Caciagli che ha collaborato con me per queste ricerche.

#### RIASSUNTO

Viene descritto un metodo per il facile allevamento in laboratorio degli Anofeli destinati alla malarioterapia.

Roma. — Istituto di Sanità Pubblica. 1939-XVII.

Siena. — Ospedale San Nicolò.

