



A. 39.53

*Omaggio
Bell'ed*

Istituto di Medicina legale della R. Università di Napoli
diretto dal Prof. G. CORRADO

SULLA
NUOVA REAZIONE MICROCHIMICA DELLO SPERMA

NOTA SPERIMENTALE

DEL

Dott. VINCENZO MAJONE

Coadiutore volontario

(Riunione del 24 maggio 1906 in 2.^a convocazione)

*Estratto dal Giornale dell'Assoc. Napol. dei Medici e Naturalisti
Anno XV — Puntata 3^a e 4^a*

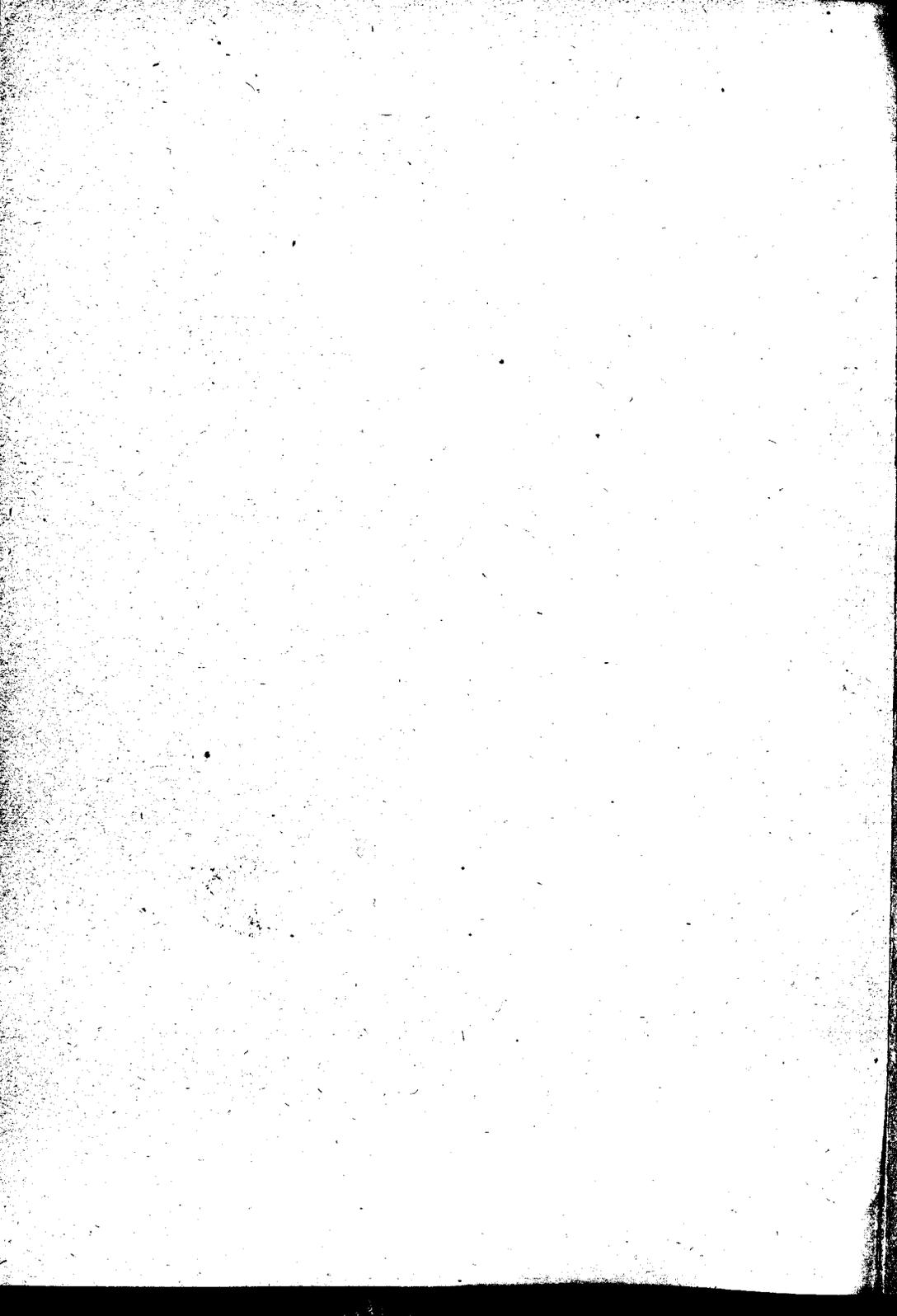


NAPOLI

STAB. TIPO-STEREOTIPO F. DI GENNARO & A. MORANO

S. Sebastiano 48, 1^o piano

1906



Istituto di Medicina legale della R. Università di Napoli
diretto dal Prof. G. CORRADO

SULLA
NUOVA REAZIONE MICROCHIMICA DELLO SPERMA

NOTA SPERIMENTALE

DEL

Dott. VINCENZO MAJONE

Coadiutore volontario

(Riunione del 24 maggio 1906 in 2.^a convocazione)

Estratto dal Giornale dell'Assoc. Napol. dei Medici e Naturalisti
Anno XV — Puntata 3^a e 4^a

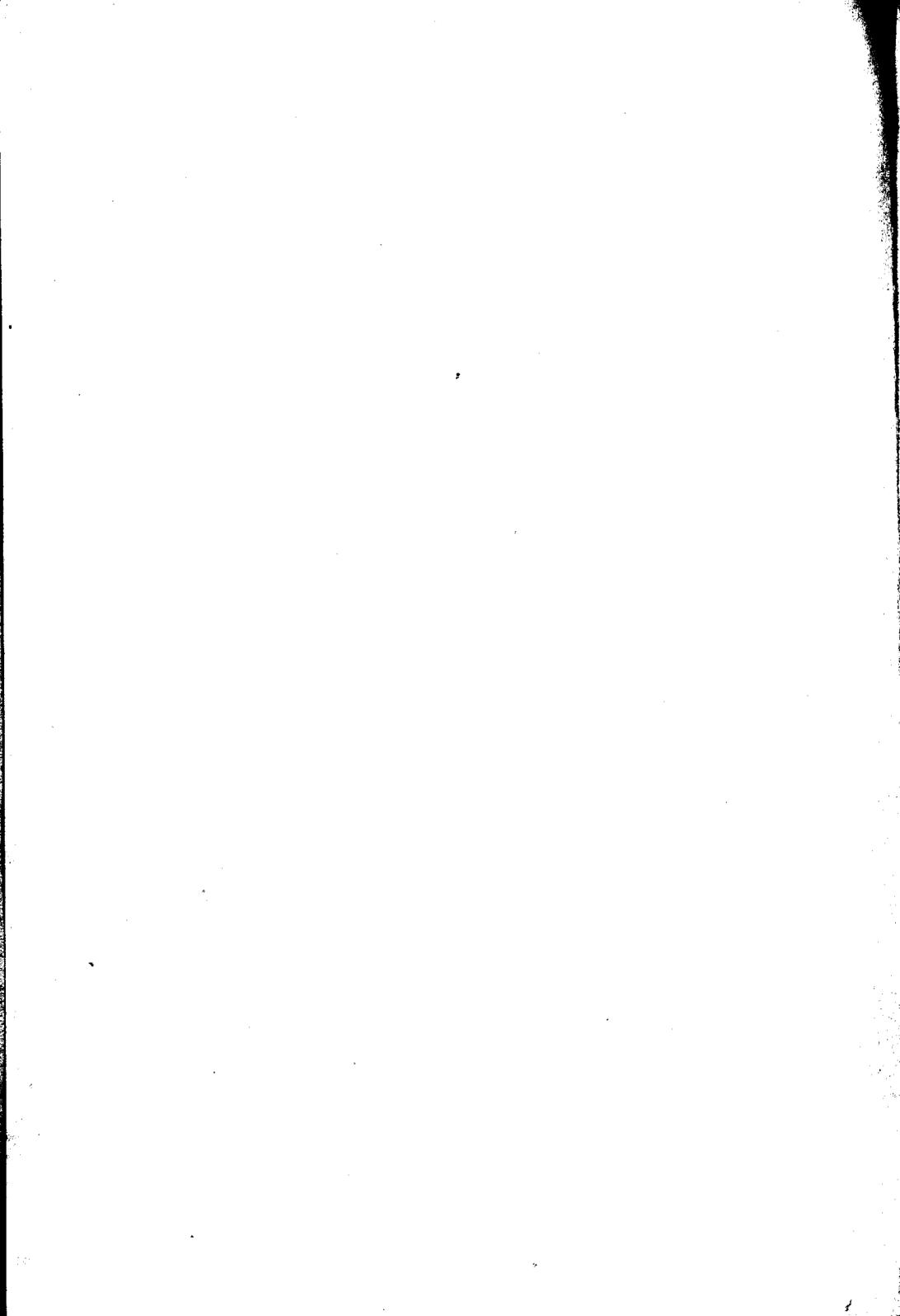


NAPOLI

STAB. TIPO-STEREOTIPO F. DI GENNARO & A. MORANO

S. Sebastiano 48, 1^o piano

1906



Fin dal febbraio dello scorso anno, allorquando l'egregio mio amico Dott. M. Barberio mi fece conoscere la sua nuova reazione microchimica dello sperma, io fui d'avviso ch'essa meritasse d'esser presa in seria considerazione, e mi accinsi a fare una lunga serie di esperimenti per assodare, specialmente dal lato medico legale, quale valore pratico le si potesse assegnare.

Ciò, come si vede, fu due mesi prima che il Dott. Barberio comunicasse la sua nota alla R. Accademia delle Scienze Fisiche e Matematiche di Napoli.

Siccome, però, a misura che m'inoltravo nelle ricerche, altre se ne presentavano che trovavo necessarie intraprendere, così ne è derivato che non prima di ora mi è stato possibile di far noti i risultati ottenuti.

Comincerò dal riferire le esperienze fatte:

I. con sperma umano, allo stato liquido: a) *fresco*, b) *più o meno alterato da processi putrefattivi*, c) *esposto ad agenti di diversa natura*, d) *misto ad alcuni altri liquidi organici e ad altre sostanze*;

II. con sperma umano disseccato su tessuti, su vetro, su carta, ecc.: a) *recente o antico*, b) *esposto a diversi agenti*, c) *misto ad altre sostanze*.

III. con diverse secrezioni normali e patologiche e con diversi succhi organici dell'uomo;

IV. con sperma di alcuni animali;

V. con alcuni succhi vegetali.

VI. In ultimo, riferirò le indagini fatte intorno alla genesi della nuova reazione.

E, poichè dalla maggioranza degli autori vien riconosciuto che, la reazione del Florence, se ha un valore abbastanza limitato rispetto alla sua specificità per lo sperma, pure reagisce sempre energicamente con questo (salvo poche eccezioni), io credetti di non trascurare, nei casi opportuni, un paragone fra le due reazioni microchimiche.

Il Dott. Barberio, come si rileva dalla sua nota, usa, per la sua reazione, l'acido picrico, sia in soluzione satura acquosa che alcoolica; ma avverte che anche con la soluzione di un picrato ed anche col reattivo di Esbach può ottenersi lo scopo.

Basta far venire in contatto una piccola goccia di sperma più o meno fresco o di *soluzione* concentrata di sperma disseccato con una piccola goccia di soluzione di acido picrico, perchè la reazione avvenga quasi immediatamente. Difatti, pochi secondi dopo, il liquido s'intorbida, dando un leggiero precipitato gialletto, ed al microscopio, con un ingrandimento tra i 400 e i 600 diametri, si osservano molti piccoli cristalli gialli, fortemente rifrangenti, che si presentano o di forma ovoidale o come aghi a contorno rombico, di diversa grandezza (dai 5 ai 22 μ di lunghezza), e qualche volta raggruppati in modo diverso, come a croce, a druse, a V.

Tali cristalli sono birifrangenti, sono poco solubili in acqua, quasi insolubili nel benzolo e nello xilolo. Gli accennati caratteri valgono a farli distinguere dai cristalli

che si originano per evaporazione delle soluzioni di acido picrico e di picrati alcalini e alcalino-terrosi.

Un primo vantaggio, e di non lieve momento, presenta la reazione del Barberio su quella del Florence, pel fatto che i preparati possono rendersi duraturi montati in balsamo. Io conservo alcuni preparati da 14 mesi e sono come erano nel primo giorno. Ciò è di grande utilità pel medico legale in caso di contestazioni.

Inoltre, qualora si disponga di pochissimo materiale, si può benissimo cimentare il reattivo del Florence sullo stesso saggio su cui si è sperimentato l'acido picrico, giacchè allora i cristalli del Barberio si colorano in giallo-bruno, diventano opachi, poi diventano simili a granuli informi e lentamente si dissolvono, mentre già qua e là compariscono i cristalli del Florence. L'inverso però non si verifica, cioè nel preparato fatto col trioduro di potassio l'acido picrico non produce i cristalli specifici.

Questa osservazione da me fatta fin dall'inizio delle mie esperienze è stata anche fatta e già pubblicata nel gennaio ultimo dal Cevidalli.

Premetto che io mi sono avvalso quasi sempre della soluzione acquosa satura di acido picrico, pure avendo usato qualche volta una soluzione alcoolica ed una soluzione di picrato d'ammonio, nei diversi tentativi fatti in qualche caso in cui con la soluzione acquosa satura non avevo avuto la reazione.

Saggiai anche col reattivo di Esbach, e dico qui una volta per tutte che, sempre che ebbi reazione affermativa con l'acido picrico, l'ebbi costantemente pure col reattivo citro-picrico.

Le osservazioni le facevo tanto su preparati a goccia pendente che su preparati ordinari, con tutte quelle precauzioni suggerite dal Barberio stesso.

Per avere i preparati duraturi facevo evaporare spontaneamente, su d'un vetrino copraoggetti, il liquido in esame,

dopo essere venuto in contatto col reattivo, poi lavavo in acqua distillata il preparato, lo facevo asciugare, lo passavo in alcool assoluto e in ultimo lo tenevo 15-20' in xilolo e lo montavo in balsamo.

Ed ora passo immediatamente a dire delle esperienze fatte.

I.

SPERMA UMANO ALLO STATO LIQUIDO.

a) *Sperma fresco.* — Ebbi occasione di sperimentare su sperma di varii individui giovani e sani, circa 10, 30, 50' dopo l'eiaculazione. Gli spermatozoi vi erano sempre numerosissimi e spesso conservavano ancora un vivace movimento.

Ottenni numerosissimi cristalli, in massima parte a forma ovoidale; tra i romboidali prevalevano quelli piuttosto grandetti (larghi 2-4 μ lunghi 12-16 μ), ma non mancavano quelli esilissimi, aghiformi.

Allorquando mi riusciva di rinvenire degli spermatozoi moventisi, facendo infiltrare per capillarità tra le due lastre una goccia di soluzione satura di acido picrico osservavo che, col diffondersi del reattivo pel preparato, gli spermatozoi perdevano lentamente il loro movimento, mentre un gran numero di cristalli si formava in tutto il campo. Gli spermatozoi restavano inalterati e tinti elegantemente in giallo.

I cristalli, pei loro caratteri fisici e chimici rispondevano in tutto a quelli precedentemente descritti. E noto ancora che essi resistono al calore oltre 165° per 15-30 minuti.

È degno di essere rilevato poi che con uno di questi spermi il reattivo del Florence non reagì, per quante volte si fossero con ogni precauzione ripetuti i preparati.

Esperimentai pure con sperma di diversi altri individui, dai 22 ai 45 anni, tutti di sana costituzione organica; tale sperma era stato eiaculato da 4 ore, da ore 8 1/2 da ore 11, 13, 15, 18, e gli spermatozoi vi si trovavano sempre in gran

numero. Il risultato per la reazione del Barberio fu conforme ai precedenti; per la reazione del Florence fu sempre positivo.

Per assegnare un' espressione numerica alla sensibilità della reazione con l'acido picrico, saggiai diverse diluizioni di sperma fresco in acqua distillata ed assodai che fino alla diluizione di 1 a 500 cm.c si ha risultato positivo, servendosi solo di una piccola goccia di tale diluizione, purchè si faccia evaporare spontaneamente buona parte di tal quantità di liquido. Ciò va riferito sempre a sperma di individui sani e derivante da coito unico.

Secondo questi dati, sarebbe talvolta assai più energica la sensibilità del reattivo del Florence (v. Binda).

b) Sperma più o meno alterato da processi putrefattivi. — Conservai in un armadio diversi campioni di sperma in diversi tubicini non perfettamente chiusi, dopo che solo ad alcuni campioni aggiunsi rispettivamente un egual volume di saliva, di urina e di sangue ed a pochi altri metà del volume di feci; quindi li cimentai a diversi periodi di tempo.

a) Costatai che, col liquido seminale solo, l'acido picrico reagì sempre, fino ad 11 mesi e mezzo, dando ogni volta più o meno numerosi cristalli, fra i quali, quasi sempre, salvo pochi casi, predominavano quelli a forma ovoidale, di diversa grandezza.

Alcune volte mi è parso che, diluendo alquanto lo sperma, o usando una soluzione di acido picrico meno concentrata, prevalessero i cristalli a contorno rombico sugli altri e gli individui piccoli sui grandi; ma ciò non s'è verificato sempre.

Il reattivo del Florence, nei diversi campioni di sperma solo, non produsse più cristalli rispettivamente dopo 6-8-14-27-58 giorni, mentre pur determinava nel liquido un discreto intorbidamento. Una volta col 3° di questi campioni (che non aveva più reagito dopo 14 giorni), al 37° giorno,

15 minuti dopo che s'era fatto venire in contatto col trijoduro di potassio, si vedevano in un sol preparato cristallini giallo-brunastri, romboidali, imperfetti, lunghi da 8 a 16 μ ., i quali si dileguarono prestissimo, nè si riebbero per aggiunta di nuovo reattivo.

Nota poi che gli spermatozoi dopo 49 giorni, al minimo, e dopo 85 giorni, al massimo, non più si rintracciarono, mentre pochi giorni prima se ne vedeva ancora qualcuno spezzettato ed in via di disfacimento.

Lo sperma, fetidissimo anche ai primi giorni dell'esperimento assumeva un colore fra il giallo sporco e il giallo-aranciato carico.

β) Con sperma misto a saliva notai che l'acido picrico dopo 7 mesi dava ancora la reazione, mentre il liquido del Florence in un caso dopo 5, in un altro dopo 16 giorni non più la dava. In questi due casi gli spermatozoi si poterono identificare rispettivamente fino al 50° e al 82° giorno.

γ) Con sperma misto ad urina l'acido picrico dopo 7 mesi e mezzo dava la reazione; il reattivo del Florence la dava pure ed abbastanza energicamente.

δ) Con sperma misto a feci le cose andarono alquanto diversamente: l'acido picrico dopo mesi 4 1/2 non reagiva più e il trijoduro di potassio già dopo 3 giorni dava risultato negativo.

ϵ) Con sperma misto a sangue i risultati si avvicinavano molto a quelli avuti con sperma misto a feci. L'acido picrico dopo circa 5 mesi non produceva che solo qualche piccolo cristallino ovoidale, rintracciabile dopo lunghe e pazienti osservazioni. Il reattivo del Florence dava risultato negativo dal 6° giorno, ma al 17° produsse pochi e piccoli cristallini, lunghi 12-25 μ ; da quel tempo fino a 5 mesi dopo essi non riapparvero più.

Ripetendo poi le riferite esperienze con sperma di uno stesso individuo, costatai che le condizioni individuali pochissima influenza hanno sugli effetti della putrefazione nei

casi esposti. Però ricordo ancora una volta che esperimentai sempre su seme proveniente da individui sani.

Esperimentai anche su sperma ottenuto premendo l'uretra del cadavere. Su 3 di questi casi, trattandosi di cadaveri di individui morti da circa 72 ore, non ottenni mai la reazione, tanto con l'acido picrico quanto col triioduro di potassio, ad onta che fosse presente sempre un discreto numero di spermatozoi: si era nel mese di giugno.

Lo stesso risultato negativo ebbi col deposito di un'urina che il Prof. Vastarini ed il Dott. de Crecchio estrassero direttamente dalla vescica di un cadavere e che conteneva moltissimi nemaspermi.

c) Sperma esposto ad agenti di diversa natura. — Diluì del liquido seminale con un pochino d'acqua distillata acidificato con tracce di acido lattico e vi trapiantai delle muffe che s'erano sviluppate rigogliose su altro sperma disseccato lentissimamente. Dopo un mese la reazione del Barberio mancò completamente, mentre già fin dal 9° giorno era mancata quella del Florence.

Per quanto riguarda l'influenza della temperatura, trovai che la reazione del Barberio si verificò sempre con sperma liquido e recente tenuto per 6 ore a 100° al calor umido e per circa 1 ora a 130° nella stufa a secco. Nelle identiche condizioni si verificò anche sempre la reazione del Florence, la quale si ottenne pure dopo avere esposto lo sperma a temperatura più alta (160°-170°).

Lasciai anche un tubicino con sperma solo esposto alla luce solare, all'aperto. Tale campione dopo 53 giorni non dava più la reazione del Barberio; ma già dopo soli 4 giorni non dava quella del Florence.

Esso era divenuto di colore carnicino, denso, puzzolente: al 53° giorno era ancora ravvisabile qualche frammento di spermatozoo.

In questo caso influirono certamente un complesso di

cause: la luce, la temperatura, il più facile intervento delle muffe e dei batterii, ecc.

d) *Con sperma misto ad altri liquidi organici ecc.* — Con liquido seminale misto, a parti eguali, a muco vaginale, a muco nasale, a sangue mestruo, a pus blenorragico, a muco-pus raccolto all'orificio uterino di una donna affetta da endometrite cronica, a terriccio, a fango, si ebbero sempre risultati positivi con ambedue i reagenti.

II.

SPERMA ALLO STATO SECCO.

a) *Sperma disseccato, sia recente che antico.* — Con sperma disseccato di recente su tela, cotone, seta, lana, carta, vetro, legno, i due reattivi corrisposero sempre, tranne due volte in cui l'acido picrico non produsse cristalli. In un caso si trattava di una macchia datante da 8 giorni e fatta con seme di un giovane a circa 22 anni su un fazzoletto fino, profumato; nell'altro caso la macchia s'era avuta con un umore eiaculato in un coito regolare da un vecchio di 84 anni!

In questi due casi non si rintracciò alcun nemasperma e il trijoduro di potassio produsse pochissimi e piccolissimi cristalli. Però, con un altro campione di seme dello stesso vecchio, si ottenne la reazione del Barberio e pure mancavano assolutamente gli spermatozoi.

Su macchie datanti da 16 giorni, da 2 mesi, 11 mesi, 3 anni, 2 anni e mezzo, 2 anni e 8 mesi, 3 anni 1/2 e 10 anni l'acido picrico produsse sempre più o meno numerosi cristalli specifici; non ne produsse invece con una macchia di 16 anni.

Il trijoduro di potassio originò cristalli in tutti questi casi, salvo che con la macchia di 16 anni produsse solo una volta, dopo circa 15' che era avvenuto il contatto, dei rari cristallini che tosto scomparirono.

Gli spermatozoi erano alterati, ma ancora dimostrabili, nella macchia di 3 anni e mezzo, non poterono essere dimostrati nella macchia di 10 e di 15 anni, in tutti gli altri casi erano evidenti.

Con sperma lasciato disseccare in sottile strato in diversi vetrini da orologio si ebbero risultati positivi con ambedue i reattivi, sia dopo 24, 48 ore, sia dopo 5, 13, 22 giorni, sia dopo 2, 4, 7, 8, 10 mesi. Dopo 10 mesi talvolta si trovava ancora qualche nemasperma identificabile.

Con seme di un individuo di circa 40 anni, seme raccolto in un vetrino da orologio e conservato in un tiretto, ottenni tanto la reazione del Barberio quanto quella del Florence, dopo circa 5 anni dalla eiaculazione.

Questo caso è importante, poichè con tal seme in numerosissimi preparati eseguiti dopo l'eiaculazione, non furono mai rintracciati spermatozoi.

Gli stessi risultati si ebbero con sperma emesso dallo stesso individuo a pochi giorni di intervallo dalla prima eiaculazione, e conservato in un tubicino aperto, nello stesso tiretto e per lo stesso tempo. Anche questo campione era privo di spermatozoi.

I cristalli però prodotti in tali casi dall'acido picrico, non erano perfetti come quelli ottenuti dallo sperma fresco.

b) *Sperma secco esposto a diversi agenti.* — Circa l'influenza del calore su macchie spermatiche, noto che con macchie di 15 giorni, di 1, 3, 7, 8 mesi, 3 anni e 1½, l'acido picrico reagì anche dopo che furono tenute 5 ore a 100° al calore umido; con macchie di 10 anni la reazione non si ebbe che solo 1 ora dopo che si erano tenute a 100°, producendosi pochi cristallini ovoidali, che riuscii a rintracciare con molta pazienza.

Il reattivo del Florence solo con la *soluzione* della macchia di anni 3 1½, tenuta per 3 ore a 100°, non reagì.

Con macchie esposte al calor secco l'acido picrico dette risultato positivo con alcune datanti da 2, 3, 8, mesi, tenute

per 15, 30' a 140° 130°; dette invece risultato negativo con una macchia di anni 3 1/2 tenuta solo 15' a 130°.

Il trijoduro di potassio riuscì positivo in tutti questi casi e pareva, anzi, che la reazione riuscisse più pronta e più energica dopo che le macchie erano state sottoposte alle anzidette temperature in confronto con la reazione che si aveva con le stesse macchie prima di sottoporle a tale trattamento.

Aggiungo pure che i due reattivi dettero sempre reazione positiva con macchie spermatiche di diversa data (da mesi 2 ad anni 3 1/2) cimentate dopo 10, 30 giorni, 2, 4, 6 mesi che erano rimaste esposte al sole (da maggio ad ottobre), dalle ore 10 alle 17 di ciascun giorno.

Con sperma spontaneamente disseccato e ammuffito in un condom lasciato all'aperto per circa due mesi, non reagirono nè l'acido picrico nè il trijoduro.

Con tal seme in numerosi preparati non si rinvennero mai spermatozoi.

Con altro campione secco e ammuffito, lasciato poco più di due mesi in un condom, chiuso, non a perfetta tenuta, in un piccolo *boccaccio*, l'acido picrico dette pochi cristallini, per lo più ovoidali, mentre il trijoduro non ne produsse. Anche in questo caso non si rinvennero gli spermatozoi.

Noto che in ambedue questi esperimenti il seme era completamente coperto di muffe rigogliose; ma è da credersi, però, che nel secondo caso l'alterazione da esse indotta non era stata così profonda come nel primo.

Con alcune macchie spermatiche, fatte ammuffire, l'acido picrico riuscì talvolta positivo, il trijoduro sempre negativo.

Con macchie che sembravano avere raggiunto un certo grado di putrefazione, si ebbe solo la reazione del Barberio, l'altra mancò.

c) *Sperma secco misto ad altre sostanze.* — Si ebbero ambedue le reazioni con soluzioni di macchie fatte da sperma

imbrattato con urina, con sangue, con sangue mestruo, con feci, con muco vaginale, con pus blenorragico, anche dopo 7 mesi che tali macchie furono prodotte.

Egualemente si ebbero risultati positivi con macchie di 3, 8 mesi e di 2 anni, imbevute rispettivamente con soluzione di bicloruro di mercurio all' 1 e al 2 0/100, di acido fenico al 5 0/10, di acido borico al 3 0/10 e con soluzione concentrata di sapone da bucato; in quest'ultimo caso occorre un leggiero eccesso di acido picrico.

III.

DIVERSE SECREZIONI ED ESCREZIONI, SUCCHI DI DIVERSI ORGANI, ECC., DELL'UOMO.



Feci quindi delle indagini su altre secrezioni e su alcuni succhi organici dell'uomo, e mi risultò che il latte il colostro, l'urina, la saliva, il sudore, il muco nasale, il muco vaginale, il muco-pus proveniente da endometrite, il pus blenorragico, l'espettorato mucoso, l'espettorato muco-purulento, dettero costantemente risultato negativo con l'acido picrico. Così pure il succo del cervello, del cuore, del pancreas, del rene, il liquido pericardico, l'umor vitreo, il cristallino, il succo cartilagineo (cartilagini costali e interarticolari), il succo delle capsule articolari, ottenuti da cadaveri di individui di diversa età, dopo 3, 4, 10, 12 giorni dalla morte.

Invece è da notarsi che col succo del fegato, del polmone e della milza, tanto dopo 3 che dopo 4 e 5 giorni, spesso l'acido picrico dette origine a pochi cristallini gialli, romboidali, lunghi da 10 a 30 μ , che presentavano nel mezzo come un ingrossamento in senso trasversale, avevano contorni poco precisi, erano spesso aggruppati a croce o a stella; erano birifrangenti; erano pochissimo solubili in acqua ed in xilolo.

Questi cristalli hanno qualche somiglianza con quelli dati

dallo sperma fresco, ma non si formano così rapidamente come quelli, si bene dopo alcuni minuti (8-15) e la loro formazione procede dalla periferia al centro del preparato, ossia sta in rapporto con l'evaporazione del liquido. È pure notevole che essi non resistono a 150°.

Per ora mi limito a rilevare solo questo; ma certamente sono necessarie altre e più minute ricerche per potere stabilire la identità o meno di questi cristalli con quelli del Barberio.

Dirò in seguito degli esperimenti fatti con altri organi, come testicolo, prostata, ecc., e ciò per non ripetermi.

IV.

SPERMA DI ALTRE SPECIE DI ANIMALI.

Esaurite le ricerche intese a stabilire se nell'uomo si avesse, oltre lo sperma altra sostanza capace di dare i cristalli del Barberio con l'acido picrico, veniva naturalmente la necessità di assicurarsi se il reattivo che ci occupa reagisse pure con sperma di altre specie animali o potesse ritenersi come specifico dello sperma umano.

Potetti procurarmi solamente due campioni di sperma di toro, due di cavallo, due di becco, uno di cane, uno di coniglio e uno di cavia. Intendo dire, si capisce, dello sperma eiaculato. Devo però avvertire che quello di toro mi fu dato misto a muco vaginale della vacca, essendo stato raccolto dalla vulva. Tuttavia, pei numerosissimi nemaspermi esistenti in ambo i saggi, si poteva ritenere che la quantità di muco non era tale da potere influire nelle ricerche che imprendevo.

Con nessuno dei suddetti liquidi seminali ottenni la reazione del Barberio, neppure dopo 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 20, 30 giorni dall'avvenuta eiaculazione.

V.

SUCCHI VEGETALI, ECC

In seguito ai suddetti risultati, volli, a completamento delle mie esperienze, cimentare ancora con l'acido picrico diversi succhi vegetali, e propriamente quello dell'arancio, del limone, di diverse pere, di diversi fichi, dell'uva bianca, della nespola, della susina, dell'albicocca, della cipolla novellina e vecchia (sulla quale istituii delle ricerche sistematiche su tutti i diversi involucri), dell'aglio, ed ebbi costantemente risultato negativo. Aggiungo che con la cipolla non ebbi mai la reazione del Florence, reazione già annunciata dal Binda e dai Perrando.

Inoltre l'acido picrico non reagì mai con salde d'amido di diversa provenienza (riso, frumento, fagiuclo), con soluzione di zucchero di canna e con soluzione di gomma arabica a diversa concentrazione, con glicerina, con soluzioni di diversi saponi.

VI.

GENESI DELLA NUOVA REAZIONE

Giunto a questo punto, mi restava a fare delle indagini sulla genesi della reazione del Barberio.

C'era innanzi tutto da assodare se la reazione fosse dovuta al complesso delle diverse secrezioni che concorrono a formare lo sperma eiaculato o a qualcuno soltanto di tali secrezioni. Feci perciò un'esame accurato del materiale contenuto nei vari tratti dell'apparecchio sessuale.

Dirò subito che il succo del testicolo, dell'epididimo, il contenuto del dotto deferente, delle vescichette seminali, il succo delle glandole del Cowper, provenienti da parecchi cadaveri di uomini di diversa età (dai 26 ai 60 anni) e

morti per diverse malattie (endocardite cronica, tubercolosi polmonale, pleuro-polmonite catarrale, peritonite, ecc.) non dettero mai cristalli in contatto con l'acido picrico. Noto che nel contenuto delle vescichette erano numerosi spermatozoi più o meno ben conservati. — Le osservazioni furono eseguite dai 2 ai 5 giorni dopo la morte.

Il succo prostatico di due individui morti in seguito a tubercolosi (anni 31-35) e di un individuo morto per endocardite, cimentati con lo stesso reattivo, neppure dettero origine a cristalli. Invece il succo prostatico di ben altri otto cadaveri, alquanti minuti dopo che l'acido picrico vi formò il solito precipitato gialletto, (talvolta fino a 12' dopo) produssero parecchi cristallini, per lo più a forma ovoidale, col maggior diametro lungo da 2 a 16 μ , anch'essi birfrangenti, anch'essi pochissimo solubili in acqua ed in xilolo. Tali cristalli però cominciavano a formarsi verso la parte periferica del liquido e poi, a misura che questo per l'evaporazione si andava concentrando, si producevano anche nella parte centrale.

Aggiungo che sottoposto il succo prostatico per 1 ora a 100° non perdeva la proprietà di dare dei cristalli; così pure sottoposto a 120° per 1½ ora delle macchie secche fatte con succo prostatico tre giorni prima, si ottennero pochi cristallini ovoidali, dopo 5-10' che l'acido picrico venne in contatto con la soluzione di tali macchie. Ma, tenuto a temperature anche di poco più alte (125°-130°) e per 30'-15', il succo prostatico, tanto allo stato liquido che secco, non dette mai cristalli.

Estesi tali indagini anche ai diversi tratti dell'apparecchio sessuale di alcune altre specie animali, e constatati che il succo del testicolo, dell'epididimo, del dotto deferente e delle vescichette spermatiche del cane, del coniglio, della cavia del montone, del cavallo, dell'asino, del toro dettero costantemente risultato negativo con l'acido pi-

crico. — Esperimentai su diversi individui di ciascuna specie ed eseguii numerosissimi preparati.

Anche con alcune macchie prodotte nel 1897 su tela col succo del testicolo e del canale deferente di un vitello, non ebbi mai la reazione del Barberio, mentre osservai sempre quella del Florence, in tutti i preparati, formandosi numerosissimi cristalli tipici.

Il succo prostatico del cane dette risultato negativo con l'acido picrico, e così pure il succo prostatico del toro esaminato tanto allo stato fresco che durante la putrefazione dell'organo.

Risulta quindi dalle esperienze precedenti che soltanto col succo prostatico umano l'acido picrico dà origine a cristalli che rassomigliano a quelli che si formano con lo sperma, salvo che i primi non si producono così rapidamente come gli altri, e si vanno formando lentamente nel preparato, procedendo dalla periferia alla parte centrale di questo, a misura che il liquido si concentra per evaporazione.

Ora, dati questi caratteri, si può senza altro asserire che i cristalli prodotti dallo sperma umano sieno identici a quelli prodotti dal succo prostatico?

Il Modica ha ammesso ciò come probabile, pur facendo qualche riserva, a causa della minore resistenza presentata verso le alte temperature dal succo prostatico in confronto dello sperma. Egli ha pure constatato che il succo prostatico reagisce tanto più energicamente con l'acido picrico per quanto meno deriva dall'organo fresco; e noi abbiamo visto invece che con lo sperma la reazione si ha energicamente anche 10' dopo l'eiaculazione.

Il de Dominicis poi ritiene che certamente la reazione data dall'acido picrico col succo prostatico sia quella stessa che è data dallo sperma col medesimo reattivo, e che è appunto il succo prostatico quello che reagisce nello sperma.

Quantunque, ripeto, ci sieno dei caratteri comuni ai cristalli dati dalle due sostanze in parola, a me pare che

l'identità delle due reazioni, per quanto probabile, non si possa ancora senza riserva ammettere, fino a che non si dimostri, non per via di semplici ipotesi: 1° che fisicamente i cristalli nei due casi siano identici; 2° perchè il succo prostatico tenuto a 125° non dá più la reazione, mentre lo sperma nelle identiche condizioni reagisce; 3° perchè il succo prostatico freschissimo è poco attivo quando invece lo sperma anche appena eiaculato reagisce energicamente.

L'osservazione che col succo prostatico in via di putrefazione l'acido picrico reagisce con maggiore energia che con la stessa sostanza allo stato fresco, fa sorgere il dubbio che nel primo caso la reazione non sia dovuta a ptomaine piuttosto che ad altro, conoscendosi come l'acido picrico è uno dei reattivi generali anche delle ptomaine, come degli alcaloidi.

Dal lavoro di Popoff, e anche da mie esperienze, risulta che i cristalli che tale reattivo produce con alcuni alcaloidi (stricnina, brucina, papaverina, narceina, chinidina, cinconina, berberina) in nessun caso sono simiglianti a quelli del Barberio; e lo stesso io ho potuto constatare con alcune ptomaine (cadaverina, metilguanidina, neuridina, nevrina) e con estratti eteri, cloroformici ed amilici di alcuni organi (stomaco, intestino, fegato, milza) in putrefazione.

Intanto, o che la reazione sia data dallo insieme delle diverse secrezioni che concorrono a formare lo sperma o che sia data semplicemente dal succo prostatico, a quale principio chimico essa è propriamente dovuta?

Certo può escludersi che sia dovuta a quella stessa sostanza che dà la reazione del Florence, sia pure la colina; e su ciò siamo tutti d'accordo. Abbiamo visto dalle esperienze riportate che, molte volte, si aveva la reazione del Barberio e mancava quella del Florence, che in alcuni casi succedeva l'inverso, che, infine, nello stesso preparato

si possono avere entrambe le reazioni. Del resto la colina non mi ha dato mai la reazione del Barberio. D'altra parte, poichè è risaputo (vedi di Mattei, Perrando, Cardile, ecc.) che il principio che dà la reazione col triioduro di potassio è estraibile con l'alcool, io ho esaurito con questo solvente dello sperma recente e disseccato spontaneamente su lastre di vetro ed ho potuto constatare che l'estratto alcoolico, mentre dava splendidamente la reazione del Florence, non dava mai quella del Barberio. Invece, ripreso poi con poca acqua distillata il residuo dello sperma e, filtrato e rifiltrato fino ad avere un liquido perfettamente limpido, con una piccola gocciolina di questo ottenni dei magnifici e numerosissimi cristalli, sia romboidali che ovoidali. Ciò fa ammettere che il principio che dà la reazione con l'acido picrico non è solubile in alcool, ma è invece solubile in acqua.

Barberio esprime il sospetto che la sua reazione sia dovuta ad una sostanza appartenente al *gruppo* delle protamine, basandosi sui caratteri che questi proteici hanno di non essere coagulabili col calore, ~~di avere la proprietà~~ di essere precipitate anche in soluzione alcalina e di dare cogli acidi, specialmente con l'acido picrico, sali ben cristallizzati.

Certo il suo sospetto è chimicamente giustificabile e potrebbe diventare una realtà allorquando si venisse a dimostrare che, come negli spermatozoi del salmone, dello sturione ecc., così anche nello sperma umano, privo di spermatozoi, esistesse una sostanza appartenente al ricordato gruppo delle protamine.

Il Modica e il de Dominicis, avendo ammesso che la reazione nello sperma sia data dal succo prostatico, ricavano da ciò, naturalmente, ch'essa risulti dalla combinazione dell'acido picrico con la spermina.

Era però di una certa importanza la constatazione fatta dal Barberio che il comportarsi dello sperma e della spermina di Poehl verso le alte temperature non è identico.

Ma il de Dominicis asserisce invece che egli, ripetendo con la migliore tecnica questo esperimento non ha osservato in ciò differenza alcuna.

Io pure ho voluto assicurarmi di ciò e, facendo del mio meglio, ho constatato che la spermina di Poehl produce, in contatto con l'acido picrico dopo alcuni minuti (da 2 a 15') parecchi cristalli romboidali, lunghi da 12 a 16 μ (tra i quali alcuni sembrano più sbiaditi di quelli dati dallo sperma, tanto che risaltano poco nel campo colorato in giallo dal reattivo; e questi non sono birifrangenti) e pochi cristallini ovoidali. Tali cristalli sono abbastanza perfetti nella forma; sono pochissimo solubili in acqua ed in xilolo. E posso affermare che, tenuto in un vetrino la detta spermina per 30', ed anche per minor tempo, (20-15') a 100° i cristalli non più si sono avuti; e lo stesso m'è accaduto sperimentando con macchie recentissime di spermina tenute per 1½ ora a 110°.

Inoltre mi sembra non trascurabile ciò, che mentre i cristalli dati dallo sperma resistono fino ad oltre 165° nella stufa a secco, quelli dati dalla spermina non resistono a 140°, ma fondono trasformandosi in granuli amorfi.

Ad ogni modo, i risultati differenti ottenuti dal de Dominicis potrebbero riferirsi forse allo stato di purezza e di conservazione della spermina usata. Quantunque però nessun dubbio mi sorga per quella da me usata, pure ammetto che sarebbero opportuni degli esperimenti su altri campioni di detta sostanza, per potere assodare qual'è precisamente il suo modo di comportarsi verso le alte temperature.

Ritenendo, dunque, il de Dominicis, che la reazione del Barberio sia dovuta alla combinazione dell'acido picrico con la spermina, che secondo alcuni è abbastanza diffusa nell'organismo, ammetterebbe che « per scarso rapporto quantitativo o azione impediante delle altre sostanze organiche, la reazione non si potesse ottenere nella prova diretta dagli altri organi ». E dimostra ciò estraendo da vari organi dell'uomo e del cane, per mezzo dell'alcool

ammoniacale bollente, una sostanza che reagisce con l'acido picrico come il succo prostatico e lo sperma.

Io ho ripetuto queste sue esperienze ed ho effettivamente ottenuto dei cristalli, sia romboidali, che ovoidali dalla prostata, dal fegato, dal polmone, dal cuore, dal timo; dalla prostata poi, li ho ottenuti anche estraendo con alcool ammoniacale a freddo, previa macerazione di 36 ore.

Ma noto che anche questi cristalli non si producono così rapidamente come quelli dati dallo sperma, e che la loro formazione, procedendo dalla periferia alla parte centrale del preparato, pare sia in rapporto con l'evaporazione e con la conseguente concentrazione del liquido.

Tuttavia io credo che tali esperimenti neppure dimostrino in modo inconfutabile la origine della reazione del Barberio: difatti, che conosciamo noi se, similmente alla spermina, altre sostanze vi sieno diffuse nei diversi organi, anch'esse estraibili per mezzo dell'alcool ammoniacale bollente?

Gli è perciò che io reputo necessario approfondire meglio lo studio su ciò che riguarda la genesi dei cristalli prodotti dall'acido picrico, perchè, se è vero che molti dati abbiamo per ritenere ch'essi sieno dovuti alla spermina, è vero altresì che, ammessa tale origine, alcuni fatti restano ancora senza spiegazione. Da parte mia, quindi, mi propongo di continuare le indagini da questo punto di vista.

Concludendo, a me pare che, dai risultati delle mie esperienze si possa desumere che la reazione del Barberio ha un valore molto superiore a quello della reazione del Florence, non solamente perchè con sperma fortemente putrefatto ed ammuffito l'acido picrico reagisce anche parecchi giorni dopo che il trijoduro è riuscito negativo (con sperma putrefatto, anzi, reagisce per parecchi mesi), ma anche, e maggiormente, perchè, mentre il reattivo del Florence riesce positivo con un grandissimo numero di sostanze, l'acido picrico nelle numerose esperienze da me fatte è riuscito positivo con lo sperma e solo col succo della prostata, col

succo del fegato, del cuore e del polmone ha dato dei cristalli che, se non si possono senz'altro ritenere per diversi, certo non si possono ancora dichiarare identici.

Nè mette conto, dal punto di vista pratico, il prendere in considerazione i cristalli che si possono avere da altri organi estratti con alcool ammoniacale, poichè tale trattamento non si fa nell'esame delle macchie sospette.

Si può ricavare pure dalle esperienze riportate che la reazione del Florence merita ancora di essere tenuta in considerazione; poichè, salvo le eccezioni su riferite (ammuffimento, putrefazione), verificandosi sempre ed energicamente con lo sperma, anche se questo fu esposto ad una discreta temperatura, può servire, qualora invece riesca negativo, a fare escludere quasi con sicurezza che una macchia sia stata fatta dal liquido seminale.

Infine si desume che, allo stato attuale delle nostre conoscenze, sebbene sembri assai probabile che la reazione del Barberio sia data dalla spermina, pure non si può con tutta certezza ammettere ciò.

Ed ora sento il dovere di rendere pubblici ringraziamenti all'Ill.mo Prof. Corrado, mio amatissimo maestro, per i sapienti consigli di cui mi è stato largo durante questo lavoro e per l'abbondante materiale che s'è compiaciuto mettere a mia disposizione.

Ringrazio ancora il Dott. Barberio che tanta affettuosa amicizia mi ha dimostrato nel fornirmi tutti quegli schiarimenti che mi sono stati necessari.

Ringrazio, infine, il Prof. Vastarini, che gentilmente mi ha procurato alcune prostate.



BIBLIOGRAFIA

Mi limito qui a notare solamente gli autori citati nel presente lavoro, rimandando per tutto ciò che possa riguardare la reazione del Florence alla bibliografia riportata nei lavori del Binda, del De Crecchio, del Barberio, ecc.

- BARBERIO M. — *Nuova reazione microchimica dello sperma ecc.* Rendic. della R. Acc. delle Scienze Fisiche e Matematiche di Napoli. Aprile 1905.
- BINDA C. — *La reazione del Florence nella dimostrazione medico-legale dello sperma.* Giorn. di Medicina legale. Anno V. N.° 2, Marzo 1898, pag. 68.
- CARDILE P. — *Ricerca della Colina.* R. Acc. Peloritana, 11 Marzo 1898. Ved. Riforma med. Anno XIX. N.° 88, Vol. II, pag. 150.
- CEVIDALLI A. — *Ueber eine neue mikrochemische Reaktion des Sperma.* Verteljahrs. f. ger. Med. Januar 1906.
- DE CRECCHIO G. — *Sulle macchie di sperma.* Arte medica, Gazzetta degli Ospedali e delle Clin. 1900.
- DE DOMINICIS A. — *Genesi e valore di una nuova reazione dello sperma.* Giorn. Internazionale di Scienze mediche. Anno XXVIII, Fasc. 5, N.° 15 Marzo 1906, pag. 223.
- DI MATTEI E. — *I cristalli del Florence nella diagnosi medico-legale dello sperma.* Ufficiale sanitario. Anno X, 1897.
- Idem — *Influenza di alcuni fattori sulla reazione microchimica del Florence.* Ufficiale sanitario, Anno XI. 1898.
- FLORENCE. — *Du sperme et des taches de sperme en Médecine Légale.* Archives d'Anthropologie criminelle Lyon 1896, N.° 59, pag. 532.

- MODICA O. *Sulla nuova reazione microchimica dello sperma.* Arch. di Farmacolog. speriment. e Scienze affini, Anno IV, Vol. IV, Fasc. XII.
- PERRANDO G. G. — *Contributo alla conoscenza di alcune questioni biologiche e medico-legali relative alla reazione del Florence.* Rivista di Med. leg. e di Giurispr. med. N.º 5, Anno 1898.
- POPOFF. Ann. d' hyg. publ. et de méd. lég. XXVI, 1891.

Napoli 30 aprile 1906.

3853



