

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCIX.

1902

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XI.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1902

Zoologia. — *Il Mollusco contagioso negli Anfibi* (1). Nota di PIO MINGAZZINI, presentata dal Socio TODARO.

Il Mollusco contagioso si conosceva, fino ad ora, soltanto in pochissime specie appartenenti a due classi di Vertebrati, cioè ai Mammiferi (uomo, pecora) ed agli Uccelli (colombo, pollo). Non si era sospettato nemmeno che sarebbe stato possibile di riscontrare tale forma patologica nei Vertebrati inferiori, poichè si credeva limitata ai soli Vertebrati omotermi. Invece io ho potuto trovare, in una specie di Anfibia dei dintorni di Paternò in provincia di Catania, nel *Discoglossus pictus*, una malattia dell'epidermide, che si presenta sotto la forma di noduli relativamente grandi, la quale per i suoi caratteri macroscopici si deve classificare nella categoria del Mollusco contagioso.

I *Discoglossus* infetti provengono da certe località nelle quali sembra che la malattia si propaghi con relativa facilità, perchè un gran numero di esemplari, ivi raccolti in primavera, si presentava affetto da essa. Vi erano alcuni individui lievemente attaccati, con due o tre noduli soltanto sulla loro pelle, altri invece presentavano una notevole estensione del loro tegumento ricoperta dai noduli del Mollusco contagioso. Relativamente alla distribuzione di essi, può notarsi che il dorso è molto più frequentemente infetto del ventre, e presenta noduli molto più sviluppati ed appariscenti. Sebbene non si possa riscontrare nei diversi individui infetti una vera sede di predilezione della malattia, perchè tutta quanta la superficie del corpo può essere invasa dai noduli, tuttavia si può dire che essi trovansi con maggior frequenza all'estremità anteriore verso l'apice del muso, sui margini della bocca e in vicinanza degli occhi, e nell'estremità posteriore in tutta la regione sacrale, con un massimo in vicinanza dell'ano. Meno frequentemente vengono attaccati gli arti, però mi è riuscito di trovarne qualche caso, principalmente sugli anteriori, e non sono risparmiate neppure le dita, sul cui apice ho trovato talvolta dei noduli più o meno sviluppati.

I detti noduli, quando hanno raggiunto il loro completo sviluppo, sono piuttosto grandi; hanno un diametro di quattro a sei millimetri, sono rilevati sul resto del tegumento per un'altezza di circa un millimetro, hanno forma circolare od ovale più o meno regolare. Quando due o più si formano a poca distanza, vengono a toccarsi allorchè sono sviluppati, per un tratto maggiore o minore, lungo il quale il contorno diventa rettilineo. Se molti si sviluppano contemporaneamente in diretta vicinanza, possono fondersi in modo più o meno completo, formando così una superficie nodulare a contorno

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Zoologia nella R. Università di Messina.

esterno curvilineo, nella quale è possibile in certi casi di riconoscere il numero di noduli che l'hanno originata, mentre in altri casi è impossibile, a cagione della completa fusione avvenuta. Queste superficie possono essere notevolmente estese e raggiungono talvolta più di un centimetro quadrato.

Il colorito di questi noduli nell'animale vivente è di un bianco opale, alquanto trasparente; negli animali fissati con sublimato è invece bianco candido, spiccante molto sul fondo bruno scuro o bruno verdastro della pelle del dorso dell'animale; molto meno evidenti sono quelli del ventre, perchè il loro colore è simile a quello bianco giallastro della sua superficie inferiore del *Discoglossus*.

La superficie dei detti noduli è pianeggiante; essi per conseguenza si presentano come tanti dischi rilevati sulla pelle dell'animale. Quando si osserva questa superficie sui noduli già fissati e conservati in alcool, vi si vedono delle screpolature. Queste sono di due sorta: in alcuni casi sono alquanto profonde, si trovano sulla superficie dei noduli complessi risultanti dalla fusione di due o più noduli semplici e si debbono interpretare come i limiti più o meno evidenti dei noduli primitivi; in altri casi sono più superficiali e poco estese: partono dal centro del nodulo semplice senza raggiungere la periferia ed allora sono l'espressione di tratti di disfacimento della parte superficiale dell'epidermide del nodulo; altre volte infine queste screpolature sono limitate al centro del nodulo ed hanno l'aspetto di un punto infossato del disco stesso.

I *Discoglossus* infetti non presentano differenze fisiologiche ed anatomiche apprezzabili, dai sani; come questi saltano, nuotano e camminano con facilità e vivacità; i loro organi interni sono integri e ben conformati. Io credo che, eccettuati i casi gravissimi, nei quali i noduli per aver ricoperto ed alterato gran parte dell'epidermide, impediscono le funzioni importantissime che questa ha negli Anfibi, causando pertanto uno stato patologico generale grave ed anche la morte, gli animali possano nei casi più comuni, d'infezione leggiera o mediocre, compiere al pari dei sani le diverse funzioni in modo normale.

Esaminata al microscopio un poco di poltiglia ottenuta raschiando la superficie dei detti noduli nell'animale vivente, si vedono le cellule epidermiche normali ed alterate e molti globuli alquanto rifrangenti, caratteristici di questa forma di Mollusco contagioso, un po' irregolari e variabili di dimensione, molto più grossi in generale di quelli della stessa malattia degli Uccelli e dei Mammiferi. Però tale esame riesce nei Batraci comparativamente più difficile di quello che sia nei Vertebrati superiori, poichè nei primi il Mollusco non forma nel derma un'introflessione a modo di follicolo, con apertura crateriforme e con una cavità contenente miriadi di tali corpi, come avviene nei secondi, ma presenta una superficie pianeggiante, con le piccole screpolature superiormente descritte, nelle quali possono trovarsi piccoli accumuli di tali corpi.

I preparati permanenti ottenuti con la triplice colorazione azzurra rossa e gialla, data dall'ematossilina Ehrlich, carminio litico *in toto* ed acido picrico sciolto o in xilolo od in essenza di trementina nelle sezioni, secondo il metodo già da me altre volte pubblicato, confermano il reperto delle osservazioni allo stato fresco, e completano le conoscenze intorno a questa particolare forma patologica dell'epidermide del *Discoglossus*. Le sezioni furono praticate trasversalmente ai noduli presi da diverse parti del corpo, come l'apice del muso, la regione orbitaria esterna, la regione dorsale, le regioni laterale e addominale, tutte dettero risultati identici. I parassiti risultarono colorati in modo differente: i giovani in azzurro intenso dall'ematossilina, gli adulti in rosso dal carminio litico e quelli più maturi, che si trovano nello strato superficiale o anche talvolta liberi sulla superficie nelle screpolature dell'epidermide, poco tinti dai due precedenti colori, ma assumenti una debole colorazione gialla dall'acido picrico. I tessuti normali dell'Anfibio seguono le leggi di colorabilità, secondo quanto produce generalmente il detto metodo: cioè l'epitelio si colora in azzurro, il connettivo in rosso vivo, i globuli sanguigni col plasma giallo e col nucleo in azzurro e via dicendo.

Sede della infezione è esclusivamente l'epidermide; anzi essa non viene in generale affetta in tutte le sue parti, poichè le glandole che ne sono una dipendenza, non di rado vengono risparmiate dal parassita e si trovano normalmente costituite al disotto del nodulo; ma in casi gravi anche diverse fra esse vengono invase dal parassita e sono riempite dalla proliferazione epiteliale che vi produce la sua presenza. Lo strato dermico sottostante, i vasi sanguigni ed i muscoli striati, che in talune regioni possono trovarsi molto vicini all'epidermide, sono generalmente di aspetto normale. Soltanto nei noduli molto sviluppati si può osservare una leggiera proliferazione del connettivo dermico interglandolare, che a forma di zaffi rialza la epidermide infetta e contribuisce a fare aumentare la rilevatezza del nodulo. In gran parte però anche nei noduli maggiori il rilievo è prodotto a spese dello strato epidermico, il quale, in seguito alla presenza del parassita, si ipertrofizza, e prolifera notevolmente, producendo l'accumulo speciale di cellule epiteliali e parassiti che caratterizza essenzialmente il nodulo.

Le sezioni eseguite sia su noduli molto grossi ed a completa evoluzione, sia su quelli assai piccoli, dimostrano che la neoformazione epiteliale è sviluppata secondo la superficie dell'epidermide e non mostra alcuna tendenza ad approfondirsi od invaginarsi nel derma sottostante. È questa una notevole differenza con tutte le altre forme di Mollusco contagioso finora conosciute, e si può indicare come una fase primitiva di tale lesione. È interessante di notare il fatto che questa forma primordiale di Mollusco si incontra appunto in una specie appartenente ad una classe di Vertebrati poco elevata, quale è quella degli Anfibi, mentre in specie appartenenti a classi superiori come negli Uccelli e nei Mammiferi, essa si presenta con caratteri più complessi.

Forse ciò sarà in parte da attribuirsi all'*habitat* diverso dei vari ospitatori, perchè gli uni vivono all'aria, ed i corpuscoli maturi del Mollusco verrebbero facilmente a soffrire il disseccamento se non fossero conservati in un ambiente umido, come la cavità del nodulo del Mollusco dei Mammiferi e degli Uccelli, mentre gli altri vivono prevalentemente nell'acqua; ma anche ammessa una tale ragione, non si può escludere quella propria della maggiore semplicità della forma patologica dovuta alle differenze specifiche del parassita e dell'ospitatore. Un tale fatto si verifica del resto anche in altre malattie parassitarie comuni a differenti classi dello stesso tipo animale.

Il nodulo, quando è molto sviluppato, si presenta limitato nettamente dal resto dell'epidermide: si vede alle due estremità della sezione un brusco rialzo dello strato epidermico, il quale va poi leggermente aumentando verso la parte centrale e presenta sulla superficie libera un contorno variamente sfrangiato, dovuto alle sfaldature irregolari di questa parte dell'epitelio, mentre nell'epidermide normale vi è un limite rettilineo netto, perchè essa si sfalda a strati continui piuttosto regolari. La differenza di altezza fra lo strato sano e lo strato infetto dell'epidermide è notevolissima; nei noduli molto sviluppati lo spessore dell'epidermide infetta è da 15 a 20 volte superiore a quello dello strato sano. Nei noduli meno sviluppati il distacco fra la parte sana e quella malata è meno brusco e si può notare un graduale rialzo dall'una all'altra.

Tutta la disposizione regolare dell'epitelio normale viene ad essere alterata dalla presenza del parassita e tale alterazione è in ragione diretta dello sviluppo del nodulo. Le cellule dei diversi strati vengono spostate, deformate, alterate nella loro costituzione per opera dei numerosissimi parassiti sparsi o nel loro corpo o fra esse, i quali in generale sono più o meno sviluppati, come succede nelle altre forme di Mollusco, a seconda dello strato più o meno profondo dell'epidermide nel quale risiedono. Le forme giovani si trovano nelle cellule più profonde e prevalentemente nello strato degli elementi cilindrici, le più avanzate nello sviluppo e le mature negli strati sempre più superficiali; però non vi ha una legge molto costante in ciò, come avviene nel Mollusco dei Vertebrati superiori, e spesso si osservano forme molto sviluppate del parassita anche negli strati più profondi, come pure si riscontrano forme abbastanza giovani verso gli strati superficiali.

Non tutte le cellule della neoformazione epiteliale vengono invase dai parassiti, anzi molte fra esse ne sono prive; tuttavia sono alterate in parte nella forma, in parte nella costituzione. Nei noduli molto sviluppati lo strato delle cellule cilindriche viene modificato nel senso che i loro nuclei non hanno più la regolare disposizione a palizzata, come nell'epitelio normale, col loro maggior diametro disposto in direzione perpendicolare alla superficie dell'epidermide, ma invece lo presentano parallelo od obliquo a questo, e sono qua e colà più numerose, mentre altrove sono assai più rade che nel-

l'epitelio normale. Soltanto gli elementi entro i quali un parassita si sviluppa vengono ben presto a morire, degenerando con grandissima rapidità il loro protoplasma e il nucleo; tutti gli altri rimangono in vita benchè siano compressi e deformati parzialmente sia dagli elementi vicini, sia dai parassiti, col loro enorme accrescimento.

Il parassita nei primi stadi della sua esistenza intraepiteliale si presenta assai piccolo, di forma sferica del diametro medio di 3-5 μ , è poco colorabile coll'ematossilina, ha un protoplasma omogeneo, alquanto rifrangente, e si può osservare qua e là nelle cellule più profonde dell'epidermide. Raggiunge ben presto maggiori dimensioni ed acquista allora la grossezza, ed in generale anche la forma, dei nuclei dell'epidermide del *Discoglossus*, ma non di rado mantiene la figura sferoidale; il suo protoplasma comincia a mostrare dei vacuoli, ma colla colorazione da me adoperata non presenta traccia di nucleo. Si tinge fortemente in azzurro coll'ematossilina, ma si distingue facilmente dai nuclei dell'epitelio perchè non presenta il caratteristico reticolo cromatico, tinto di azzurro scuro dall'ematossilina, spiccante assai bene sul fondo chiaro occupato dal succo nucleare. La cellula epiteliale, entro cui si trova incluso, degenera profondamente, ed il protoplasma alterato di questa in parte si trasforma in un liquido jalino che attornia come un alone chiaro il parassita, in parte rimane come una massa residuale attorno al nucleo, che si presenta come un piccolo corpicciolo colorabile coll'ematossilina, non più contenente il reticolo cromatico, situato in una delle estremità dell'elemento. Questo stato perdura per un certo tempo finchè non si vede più traccia della cellula che dapprima includeva il parassita e questo rimane avvolto fino ai suoi stadi più evoluti da un alone chiaro. Accrescendosi ancora maggiormente, il parassita prende in ogni caso una figura sferica, sferoidale o irregolare a contorni curvilinei, sebbene vi siano pure delle forme che anche quando sono mediocrementemente sviluppate conservano per lungo tempo una figura bastoncineforme e sono molto cromatofile per l'ematossilina. Allorchè il parassita però ha raggiunto determinate dimensioni, ed in generale allorchè in uno od in entrambi i diametri supera i 15 μ , perde la sua proprietà cromatofila per l'ematossilina ed acquista quella per il carminio litico, sicchè si colora dapprima in viola e le forme maggiori in rosso sempre più vivo. Il suo protoplasma si vacuolizza sempre in grado maggiore. In questo stato subisce generalmente una frammentazione irregolare in masse di forma svariaticissima, le quali rimangono però sempre vicine, in modo da mostrare la figura del parassita che le ha originate; esse spesso lasciano fra loro spazi più o meno considerevoli, occupati da liquido jalino, talvolta assai stretti altre volte notevolmente grandi ed irregolari, posti a centro o verso la periferia. Infine, avendo il parassita raggiunto il *maximum* dello sviluppo intraepiteliale, che può giungere a dimensioni veramente considerevoli, come ad es. μ 104 \times μ 64, diviene maturo, perde la sua cromatofilia per il carminio e assume una tinta

violacea pallidissima, la quale si cambia in giallo più o meno leggiero, se si trattano le sezioni per un tempo abbastanza corto (ad es. 5-10 minuti) con acido picrico sciolto in essenza di trementina.

Se si confronta questa forma di parassita del Mollusco contagioso con quelle che già si conoscono, dei Mammiferi e degli Uccelli, si notano le seguenti caratteristiche differenziali:

1° Il parassita del Mollusco contagioso dei vertebrati superiori determina un'infezione i cui limiti sono meglio circoscritti di quella degli Anfibi, perchè essa si svolge in un infossamento dell'epidermide, nella cui cavità cadono le forme adulte, mentre negli Anfibi queste si spargono nell'ambiente non appena sono giunte a maturità;

2° Nei vertebrati superiori il parassita determina un'infezione più completa dell'epitelio, perchè quasi tutte le cellule della neoformazione epiteliale sono invase dal parassita, mentre negli Anfibi vi sono molte cellule del nodulo non infette;

3° Il parassita del Mollusco contagioso dei vertebrati superiori, allorchè raggiunge il completo sviluppo, ha dimensioni e forma più costanti di quello degli Anfibi, e ciò probabilmente è dovuto al fatto che i parassiti del Mollusco contagioso dei vertebrati superiori rappresentano specie più evolute e più adatte al parassitismo di quella degli Anfibi. Le dimensioni del parassita adulto dei vertebrati superiori sono molto minori di quelle del parassita del *Discoglossus*; infatti le misure dei corpi del Mollusco contagioso dell'uomo, nei preparati fissati e colorati, danno le seguenti dimensioni medie: $\mu 27 \times \mu 30$; quelle del piccione $\mu 27 \times \mu 36$, mentre un gran numero di quelli del *Discoglossus* supera i 70μ e non di rado i 100μ .

CORRISPONDENZA

Il Vicepresidente BLASERNA dà comunicazione di un invito dell'Università di Oxford per la celebrazione del terzo centenario della Biblioteca Bodleiana; e l'Accademia delibera di farsi rappresentare alla solenne cerimonia.

V. C.
