

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCX.

1913

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXII.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1913

venti di sud-ovest che, incanalati nella depressione sinclinale, hanno operato in essa più che altrove, però saltuariamente come è loro carattere, ed hanno scavato le conche, le quali in seguito furono modificate ed ampliate dalla ondatazione delle acque da loro stesse raccolte.

Parassitologia. — *Nuove osservazioni sul « Toxoplasma cuniculi »*. Nota di A. SPLENDORE, presentata dal Socio B. GRASSI.

Per proseguire le mie ricerche sul *Toxoplasma cuniculi* ho portato meco, al ritorno dal Brasile, alcuni colombi inoculati con materiale di coniglio infetto da questo interessante parassita.

L'infezione sperimentale, secondo il solito, si sviluppò in detti uccelli e pare che, durante il viaggio, il *virus* fosse diventato più attivo del consueto imperocchè uccideva gli animali inoculati in 4 o 5 giorni, mentre la toxoplasmosi sperimentale, ordinariamente, ha una durata di circa due settimane.

Furono necessarie ben tre serie di passaggi in colombi di riserba affinché qualche animale infettato dal parassita arrivasse in Italia ancora vivo durante la breve traversata marittima, che durò appena 14 giorni.

In Italia le reinoculazioni sperimentali furono ripetute sopra conigli, colombi, passerì e varie altre specie di uccelletti europei e tutti questi animali presero l'infezione che si riprodusse con tutti i caratteri clinici ed anatomici già noti da me osservati per la prima volta in S. Paolo.

Senonchè, dopo qualche mese l'inferiore cominciò a diventare eccezionale e, poco a poco, il *virus* andò perdendo la sua attività, scomparendo, finalmente, addirittura, tanto nell'Istituto del prof. Grassi, dove, per cortese ospitalità, le mie ricerche venivano eseguite, quanto in altri laboratori, dove il *virus* era stato da me fornito a vari ricercatori.

Così, mio malgrado, ho dovuto sospendere una nuova serie di studi, che avevo intrapreso sul *toxoplasma* vivo.

Qualche nuovo fatto, tuttavia, venne fuori dalle ricerche da me eseguite in Italia e mi sembra importante di fare una comunicazione a rispetto, ancora prima di pubblicare la mia estesa Memoria in preparazione sull'interessante parassita.

Alludo principalmente ad alcune strane alterazioni verificate nei muscoli pettorali di alcuni colombi, delle quali ho già fatto menzione in altra recente Nota, presentata al Primo Congresso di Patologia comparata (Parigi, 17-23 ottobre 1912) (1).

(1) A. Splendore, *Sulla toxoplasmosi dei conigli*. Pathologica, n. 101, genn. 1913.

In tale occasione io facevo conoscere che alcuni piccioni inoculati di *Toxoplasma cuniculi* presentarono, all'autopsia, certe lesioni muscolari consistenti in strie di forma lineare di colorito bianco grigiastro, longitudinalmente disposte alla superficie delle fibre superficiali dei muscoli pettorali. Tali strie, che per il loro aspetto potevano ricordare i sarcosporidi, raggiungevano fino alla lunghezza di 2 o 3 mm. Orbene, esaminando attentamente dette alterazioni, in seguito a minuziosa dilacerazione, non venne fuori alcun sarcocisto caratteristico di detti sporozoi, ma l'osservazione microscopica verificò un'infiltrazione parassitaria determinata da corpuscoli di toxoplasma conservanti, in massima parte, la tipica forma e struttura già tante volte da me descritta. In essi si potevano notare tutte le fasi di divisione longitudinale. Incontravansi, non raramente, anche di tali parassiti rinchiusi in vari globuli rossi del sangue, in numero di uno o due per ogni globulo, nel quale ultimo caso il nucleo dell'eritrocita mostravasi dislocato.

Ma in mezzo a tali forme ordinarie, altre, non sempre molto numerose, s'incontravano, libere, che si distinguevano principalmente per la posizione del loro nucleo, il quale si trovava situato ad un'estremità del corpo parassitario. Questo presentava predominantemente una forma più o meno fusata. In esse il protoplasma aveva assunto una colorazione azzurrognola un poco più oscura del solito, in mezzo a cui si notavano spesso vari globetti, colorati in azzurro intenso. Il nucleo, come sempre, presentava il colorito rosso-violetto, ma aveva forma più o meno rotonda od a cappuccio, mostrandosi formato di una massa cromatica compatta o granulosa. Incontravansi, talvolta, parassiti che potevano interpretarsi come fasi di graduale passaggio dai corpuscoli di toxoplasma ordinari fino alle forme fusate di cui ho riferito. Senonchè era molto difficile comprendere il significato di queste.

Ciò succedeva nell'estate scorsa. Accingendomi, in questi ultimi giorni, a raccogliere le mie varie osservazioni sul parassita del coniglio, ho voluto riprendere in esame sistematico particolarmente i preparati relativi ai casi di tali piccioni, ed ho avuto la felicità d'incontrare alcuni strisci colorati col Giemsa, nei quali, per quanto mi pare, la natura dei corpi fusati sopra descritti viene posta in luce. Questi strisci provenienti dalle alterazioni muscolari sopra ricordate, erano stati fatti con materiale disteso sui vetrini, sia direttamente senz'alcuna aggiunta al succo muscolare, sia in seguito ad una diluizione di questo, mercè una soluzione fisiologica di cloruro di sodio. In quest'ultimo caso, naturalmente, fu necessario tenere i preparati per qualche tempo all'aria libera per asciugarli prima che venissero fissati in alcool etere.

Orbene, all'esame dei preparati eseguiti in quest'ultima maniera, notasi che molti dei corpuscoli parassiti di forma fusata sopra ricordati subirono modificazioni di volume e di forma. Alcuni sono diventati ovalari, altri rotondoidi o addirittura rotondi, raggiungendo un diametro di 10 e più μ , mentre che nelle condizioni normali non presentano che 7-8 μ di lunghezza per 2-3 μ

di larghezza massima. In tali forme modificate riscontrasi una notevole rarefazione del protoplasma, talchè alcune si presentano appena colorate in azzurrognolo o addirittura incolori, notandosi, per altro, che molti conservano, nel loro corpo, dei globetti colorati in turchino. Il nucleo addossato alla parete ad uno dei poli presenta struttura spesso granulosa.

Incontransi, frequentemente, uno o due blocchetti di cromatina nel corpo protoplasmatico, quasi sempre situati verso il polo opposto al nucleo, i quali presentano, ordinariamente, forma di corti e tozzi bastonetti colorati in rossoviola, longitudinalmente diretti, senz'alcuna struttura evidente. Bisogna anche notare che essi sono, ordinariamente, situati in direzione parallela ai lati interni di due filamenti cromatici dei quali parleremo appresso. Tali blocchetti di cromatina potrebbero far sospettare una epurazione nucleare, per il fatto che il nucleo corrispondente trovasi in fasi di riduzione. Vedesi, difatti, il nucleo, anch'esso, in un certo grado di rarefazione, divisione e rimpicciolimento. Alcuni parassiti presentano due, altri quattro nuclei, sempre minori, ed è evidente che questi sono risultati da successive divisioni del nucleo primitivo. Finalmente, si osserva uno stadio ulteriore in cui i corpi parassitarii conservano appena due di questi nuclei figli, mentre gli altri due si trovano in uno stato di dissoluzione. Dai due nucleetti principali prendono origine, rispettivamente, due filamenti cromatici colorati in rosso come la massa nucleare, i quali, dopo essersi allontanati dalla regione del nucleo, attraverso il corpo parassitario, frequentemente s'incrociano ed arrivano alla parete opposta, donde fuoriescono, tornandosi liberi per una lunghezza di 3 o 4 μ ed anche più. Detti filamenti, nel nucleetto onde prendono origine, mettono capo ciascuno ad un granulo di cromatina, il quale, in altri casi, mostrasi libero da ogni involucre nucleare.

In altri termini, s'incontra anche qualche volta un corpo parassitario in cui i due filamenti sopra descritti si vedono fuoriuscire da una massa granulare informe, e nella quale non si è conservato alcun nucleo ben definito. Casi ha in cui i filamenti stessi vedonsi uscire da un nucleo unico ancora apparentemente indiviso; ma allora la massa nucleare mostrasi formata di una zona cromatica lievemente colorata in rosso, in mezzo a cui si possono osservare quattro o cinque granuli (cromosomi?), due soli dei quali, rispettivamente, sono legati all'origine dei filamenti.

La constatazione di questi fatti interessantissimi mi ha indotto a ripetere le ricerche più minuziose nei preparati relativi agli organi interni nonché relativi al materiale muscolare di detti colombi, preparati immersi in alcool etere subito dopo lo strisciamento, cioè senza essere rimasti alcun tempo all'aria prima di essere fissati; ma non ho trovato le forme fusate che allo stato normale sopra descritto, le quali per altro, erano eccezionali nei preparati degli organi interni, dove, invece, s'incontravano in grandissimo numero le forme comuni dei corpuscoli del toxoplasma. Indubitatilmente, quindi,

deve ritenersi che la produzione dei filamenti nelle forme sopra ricordate, sia avvenuta fuori del corpo dell'animale.

Data l'evidente analogia con la formazione dei filamenti cromatici dei gameti della malaria, deve ammettersi che dette forme fusate del *toxoplasma cuniculi* non hanno altro significato se non quello d'individui sessuali. Forse la loro riproduzione nei muscoli superficiali del torace, per la vicinanza di questi col mondo esterno, potrebbe spiegare la condizione di passaggio del parassita in un eventuale ospite di trasmissione, mentre, come si sa, la presenza del toxoplasma nel sangue circolante dei vertebrati infetti è solo eccezionale.

Sarebbe interessantissima la ricerca di questi fatti nei muscoli esterni del coniglio infettato dal parassita; ma, infelicemente, per mancanza del virus, sul momento ciò non mi è possibile.

Deve ammettersi, intanto, per la ripetuta analogia col parassita della malaria che le forme coi filamenti sopra descritte rappresentano i gameti maschili, per quanto strano sarebbe il fatto se i corpi cromatici a cui mi sono riferito rappresentassero effettivamente il risultato di un'epurazione nucleare. Quali siano le forme femminili non saprei fino ad ora precisare in maniera assoluta; ma potrà supporre che esse siano rappresentate da alcune delle stesse forme fusate, che non hanno formato filamenti di sorta. Ciò è verosimile, tanto più perchè in alcune di queste il protoplasma presenta una certa colorazione azzurra un poco più cupa dell'ordinario.

Per altro, notevoli differenze morfologiche, che potessero ritenersi come differenze di sesso, non ho, fino ad ora, osservato. Ciò potrà, naturalmente, assodarsi con certezza solo quando si sarà arrivati ad incontrare lo sviluppo delle forme sessuali nell'ospite invertebrato, che indubitabilmente deve esistere, sia questo la *stomoxis* da me accusata o sia altro insetto il trasmisore del *Toxoplasma cuniculi*.

Oltre poi ai fatti sopra riferiti, un altro reperto non meno interessante mi fu dato di osservare in un preparato a striscio colorato a secco col metodo di Giemsa; anche questo proveniva da uno dei colombi sopra ricordati ed era relativo al fegato, in cui si riscontrava una enorme riproduzione dei comuni corpuscoli del *Toxoplasma cun.* Riferiscisi quest'altro reperto, ad una forma arcuata fornita di un flagello ad una delle sue estremità.

Io già nella mia terza Nota preliminare, pubblicata sulla « Revista da Sociedade Scientifica de S. Paulo » (seduta del 17 febbraio 1910), e riprodotta sul « Bull. de l'Institut Pasteur » (tom. VIII, 1910, pag. 687) annunziavo che il parassita del coniglio da me scoperto, fra le altre proprietà morfologiche e strutturali, può anche presentare una fase flagellata.

Tale opinione era basata sull'osservazione di alcuni caratteristici corpuscoli (rarissimamente incontrati) i quali, colla forma più o meno arcuata od ovolare già conosciuta, presentavano un lungo filamento inserito ad una

delle sue estremità. Questo filamento libero aveva tutta l'apparenza di flagello.

Senonchè le condizioni in cui tale filamento fu rinvenuto, se potevano bastare per formare nell'animo mio il convincimento che si trattasse di flagello, non erano sufficientemente dimostrative per potersi escludere, in modo assoluto, un inganno di osservazione o una qualsiasi alterazione del corpo parassitario.

Trattavasi, infelicitemente, di preparati non molto ben riusciti, colorati col metodo ematossilina ferrica Rosembusch, e in un caso il filamento stesso non lasciava nettamente distinguere la sua origine nel corpo parassitario, in un altro caso non mostrava l'intensa colorazione nera del corpuscolo basale a cui metteva capo. Il filamento, in questo secondo caso, appena apprezzabile, era quasi incolore, mentre il granulo donde prendeva origine, situato nel corpo parassitario a poca distanza dall'estremità attenuata era perfettamente nero a somiglianza del centriolo esistente nel cariosoma del nucleo corrispondente.

L'accertata esistenza di un bleforoplasta, intanto, da me verificata in molti corpuscoli e il comportamento di questo, molto analogo a quanto si conosce nel gruppo dei così detti binucleati di Hartmann, davano nuovo appoggio al mio modo di vedere in favore di una fase flagellata del *Tox. cuniculi*. Il nuovo corpo flagellato ora rinvenuto è molto chiaro ed inequivoco e di esso darò una breve descrizione. Ha la forma arcuata simile a quella di un tipico corpuscolo di toxoplasma ordinario; le dimensioni di $5,5 \mu$ di lunghezza per $2,20 \mu$ di larghezza; un'estremità arrotondata e l'altra alquanto attenuata.

Il protoplasma di questo parassita, al solito, mostra una struttura leggermente areolare e colorito azzurro chiaro. Il nucleo presenta forma rotondeggiante ed è trasversalmente diretto in rapporto alla lunghezza del corpo parassitario, del quale occupa l'intero spessore fra il primo e secondo terzo interno della metà corrispondente all'estremità attenuata, in uno spazio di circa $1,5 \mu$, sembrando formato da una zona cromatica senza struttura evidente, di colorito rosso violaceo alquanto sbiadito. Nel mezzo di detto nucleo e propriamente quasi in corrispondenza del suo limite col bordo della superficie convessa del parassita, dal lato dell'estremità attenuata, notasi un cariosoma formato da un granulo di cromatina piuttosto grosso. Questo presenta colorito rosso-viola più cupo e intenso di quello della zona nucleare circostante, e da esso granulo vedesi nettamente la fuoriuscita di un filamento dello stesso colore, il quale filamento bordeggiando la parete della superficie convessa del parassita, dopo aver descritto un piccolo arco, s'insinua attraverso la piccola estremità parassitaria e tornasi libero per la lunghezza di circa 14μ . Durante il suo decorso esterno, esso descrive un paio di ondulazioni; e appare formato, già fin dalla sua origine, da una serie di bastoncelli di cromatina più o meno avvicinati fra loro, i quali sembrano contenuti

in un debole involucro di protoplasma. Il bastoncello cromatico che si trova a livello dell'estremità parassitaria sembra un poco più rigonfiato degli altri.

Quale sia il significato di tale corpo parassitario flagellato non è facile di poter ben comprendere. Data la struttura del flagello, che ricorda, fino ad un certo punto, quanto fu osservato da Bignami e Bastianelli nei gameti della malaria, si potrebbe pensare che rappresentasse anch'essa una forma sessuale mascolina, ma non vedo ancora come potrebbe stare d'accordo coi gameti, dei quali sopra ho riferito.

Qualunque sia il suo significato, intanto, è fuori di dubbio che esso rappresenta una fase chiara ed inequivoca del toxoplasma.

Tutti questi fatti, uniti agli altri da me fino ad ora pubblicati, e da altri confermati, dimostrano, sempre più, che detto parassita del coniglio da me scoperto è straordinariamente interessante, non solo per il suo notevolissimo potere patogeno verso varie specie di animali, ma anche per le proprietà biologiche da cui è caratterizzato.

PRESENTAZIONE DI LIBRI

Il Presidente BLASERNA presenta due volumi delle *Tavole annuali di costanti e di dati numerici di chimica, fisica e tecnologia*, a nome del direttore delle Tavole stesse dott. C. MARIE; il sen. BLASERNA mette in rilievo la importanza di queste tavole che contengono una raccolta ricchissima di documenti di grande valore per la scienza.

PERSONALE ACCADEMICO

Il Socio R. PIROTTA legge la seguente Commemorazione del Socio straniero EDOARDO STRASBURGER.

EDOARDO STRASBURGER trasse i suoi natali nella Polonia russa, a Varsavia, il 1° febbraio 1844 da genitori oriundi della Sassonia.

Moriva, a 69 anni, la notte del 19 maggio 1912.

Iniziava la sua vita scolastica universitaria a Bonn, nel 1864, e la continuava a Jena, dove, nel 1866, conseguiva la laurea in filosofia.

Dopo un anno di esercizio della libera docenza a Varsavia, veniva chiamato, nel 1869, a Jena professore straordinario di botanica, vi diventava ordinario presto e passava poi, nel 1880, a Bonn, dove rimase fino alla morte.

La sua preparazione scientifica e didattica fu fortunata, perchè a Bonn era Hermann Schacht, grande morfologo, acuto osservatore, abile nella tecnica della ricerca; a Poppelsdorf presso Bonn era anche Giulio Sachs, il celebre fondatore della moderna fisiologia vegetale; a Jena trovava N. Pringsheim,