

19. Zeffirino ORFEL. — Sviluppo e morfologia della *Coxiella burnetii* nell'embrione di pollo, in condizioni normali e dopo trattamento con aureomicina. — Nota I. Ricerche istologiche su preparati di sacco vitellino.

Riassunto. — L'Autore studia lo sviluppo della *Coxiella burnetii* (ceppo « Grottazzolina ») nell'embrione di pollo. Egli constata che la rickettsia si sviluppa, alle volte anche in grandissimo numero, nelle cellule entodermiche della membrana vitellina, similmente a quanto succede con la *Rickettsia prowazeki*. L'aureomicina, somministrata tre giorni dopo l'infezione, non esercita alcuna apprezzabile influenza sullo sviluppo delle coxielle.

Résumé. — L'auteur étudie le développement de la *Coxiella burnetii* (souche « Grottazzolina ») dans l'embryon de poulet. Il constate que la rickettsia se développe, quelquefois en très grand nombre, dans les cellules entodermiques de la membrane vitelline, d'une façon semblable à ce qui se passe avec la *Rickettsia prowazeki*. L'aureomycine, administrée trois jours après l'infection, n'exerce aucune influence appréciable sur le développement de la coxiella.

Summary. — The author studies the development of *Coxiella Burnetii* (strain «Grottazzolina») on the chicken embryo. The development of the Rickettsia, at times in very large numbers, in the entodermic cells of the vitelline membrane is established, similar to the case of *Rickettsia prowazeki*. Administration of aureomycin three days after infection has no appreciable effect on the development of the Coxiellae.

Zusammenfassung. — Der Verfasser untersucht die Entwicklung der *Coxiella burnetii* (Grottazzolina-Stamm) im Hühnerembryo und stellt fest, dass die Rickettsia sich manchmal auch in sehr grosser Anzahl in den entodermischen Zellen der Vitellin-Membrane in einer der *Rickettsia Prowazeki* ähnlichen Form entwickelt. Drei Tage nach der Infektion verabreichtes Aureomycin übt keinen nennenswerten Einfluss auf die Entwicklung der Coxiella aus.

Numerosi sono gli AA. che hanno studiato sia al microscopio ottico che a quello elettronico, l'aspetto e lo sviluppo della *Coxiella burnetii*.

DYER e coll. ⁽¹⁾, HERZBERG ^(2, 3, 4), NAUCK e WEYER ⁽⁵⁾, KIKUTH e GÖN-
NERTH ⁽⁶⁾ compiono osservazioni su preparati da organi di diversi animali
(milza di topo, di cavia, tessuti di artropodi, ecc.); PLOTZ, SMANDEL,
ANDERSON e CHAMBERS ⁽⁷⁾ riportano illustrazioni di varie rickettsie, fra
cui l'agente eziologico della febbre Q, viste al microscopio elettronico;
WIESMANN ⁽⁸⁾, LIEBERMEISTER e ZEHENDER ⁽⁹⁾ compiono una dettagliata
descrizione della morfologia del ceppo « Henzerling » osservato al micro-
scopio elettronico; KAUSCHE e SHERIS ⁽¹⁰⁾ descrivono le osservazioni con-
dotte su tre ceppi di *C. burnetii* (« Zuzenhausen », « Neulutzheim », « F.
Shwaikheim ») isolati da un'epidemia nel Eaden e riportano illustrazioni
di diversi preparati da organi e da culture su embrioni di pollo.

Non mi risulta, però, che sia stato studiato lo sviluppo della *Coxiella*
burnetii nel sacco vitellino dell'embrione di pollo, nè che sia stata con-
trollata la possibilità che dosi subinibenti di un antibiotico attivo sulla
rickettsia, modifichi lo sviluppo di questa o alteri la sua morfologia
similmente a quanto è stato ripetutamente osservato nel campo dei co-
muni schizomiceti.

Mi sono perciò proposto di studiare questi due punti, e nella scelta
dell'antibiotico ho preferito ricorrere all'aureomicina, perchè, insieme
alla terramicina, essa è considerata l'antibiotico più efficace nei con-
fronti della *C. burnetii* ⁽¹¹⁾.

Occorre però rilevare che se l'esperienza clinica e la ricerca speri-
mentale condotta nei comuni animali di laboratorio ci confermano tale
efficacia, tuttavia non è possibile, usando dosi anche rilevanti di anti-
biotico, sterilizzare del tutto uova embrionate infettate con *Coxiella bur-*
netii ⁽¹²⁾.

Tecnica. — Nelle mie prove mi sono servito del ceppo « Grottaz-
zolina » isolato anni or sono da BABUDIERI nelle Marche e ripetutamente
passato nell'embrione di pollo. L'infezione è stata eseguita iniettando
0,5 cm³ di una sospensione in soluzione fisiologica di membrane vitel-
line infette, nel sacco vitellino di una serie di venti uova gallate in 7^a
giornata di incubazione e ponendole poi in incubatrice a 37° C.. Dieci
di queste uova, a tre giorni dall'infezione, venivano inoculate con
0,5 cm³ di una soluzione di aureomicina (500γ di aureomicina HCl Le-
derle contenuti in 0,5 cm³ di una soluzione di potassio fosfato mono-
basico al 4,5‰), mentre le altre (controllo) ricevevano 0,5 cm³ di sola
soluzione di potassio fosfato monobasico. Tutte le uova sono state nuo-
vamente poste nell'incubatrice a 37° C., per altri quattro giorni. In
seguito esse sono state aperte e ne è stata estratta la membrana vitel-
lina, dalla quale sono stati allestiti preparati per l'osservazione istologica.

I sacchi vitellini sono stati fissati con soluzione formolata al 10% e sono stati colorati con il metodo di MACCHIAVELLO ⁽¹³⁾.

SVILUPPO DELLA *C. BURNETII* NELL'EMBRIONE DI POLLO

La *C. burnetii* si sviluppa essenzialmente nelle cellule entodermiche del sacco vitellino, come è stato già dimostrato per la *Rickettsia prowazeki* ^(14, 15). E' proprio in queste cellule che è raccolto il vitello ed è in esse che la *C. burnetii* si sviluppa, formando ammassi più o meno ricchi, che per lo più si dispongono aderenti alle travate connettivali che delimitano tali cellule. Si nota anche nei nostri preparati, come avviene per la *Rickettsia prowazeki*, una irregolare distribuzione della *C. burnetii* che varia da cellula a cellula. Si osservano cellule entodermiche ricche di Coxielle vicino a cellule vuote completamente o quasi, però non mi è mai capitato di osservare ammassi di rickettsie che riescano ad infarcire l'intera cellula, così come è stato osservato da BABUDIERI per la *R. prowazeki*.

I preparati di sacchi infettati e poi trattati con aureomicina non si differenziano, almeno all'osservazione con microscopio ottico, dai preparati di sacchi controllo. Nelle loro cellule infatti le coxielle sono altrettanto abbondanti che su questi. L'antibiotico cioè, forse anche perchè somministrato tardivamente, non sembra aver per nulla inibito lo sviluppo della rickettsia. Ciò non esclude naturalmente la possibilità che esso abbia agito sulle singole coxielle, alterandone la morfologia. Queste eventuali alterazioni morfologiche dovranno essere ricercate sia con il microscopio ottico che con quello elettronico, e questa ricerca sarà oggetto di una seconda nota.

Ringrazio il Prof. Babudieri per i consigli suggeritimi.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di microbiologia.

BIBLIOGRAFIA

- ⁽¹⁾ DYER R. E., TOPPING N. H., BENGTON I. A. - Publ. Health Rep., 55: 1945 (1940).
- ⁽²⁾ HERZBERG K. - Zbl. Bakter., 152: 4 (1947).
- ⁽³⁾ HERZBERG K. - Z. Hyg., 128: 361 (1948).
- ⁽⁴⁾ HERZBERG K., URBACH H. - Zbl. Bakter., 156: 14 (1950).
- ⁽⁵⁾ NAUCK E. G., WEYER F. - Z. Hyg., 128: 529 (1948).
- ⁽⁶⁾ KIKUTH W., GÖNNERTH R. - Klin. Wschr., 27: 185 (1949).

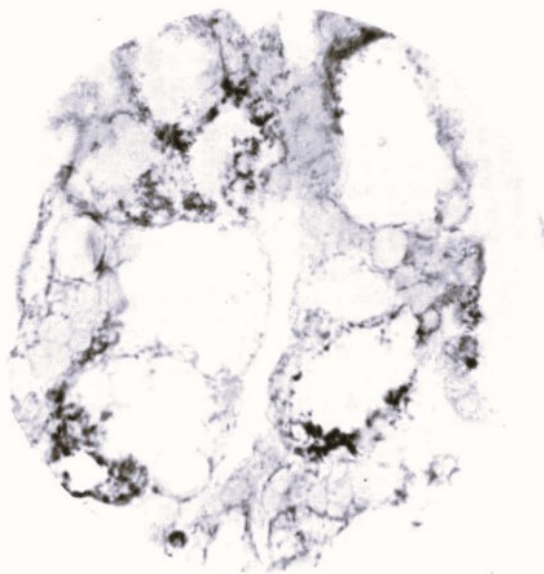


Fig. 1 - Sezione di sacco vitellino infetto. $500 \times$ circa. (Cellule entodermiche ricche di *C. burnetii*, vicino a cellule vuote completamente o quasi).

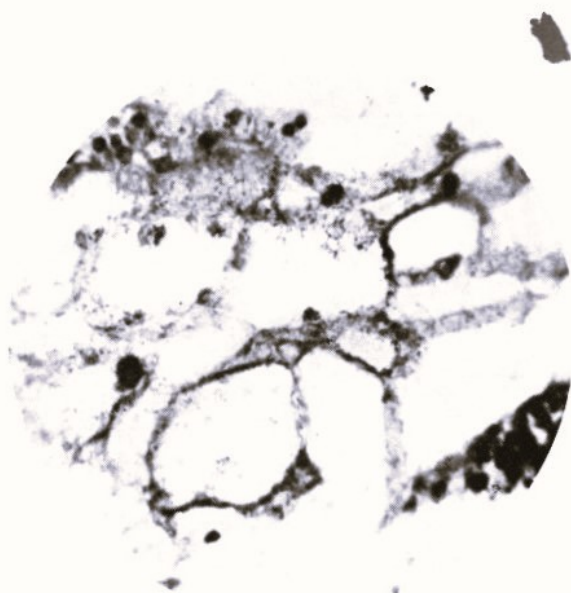


Fig. 2 - Sezione di sacco vitellino infetto. $500 \times$ circa. (Coxielle disposte aderenti alle travate connettivali che delimitano le cellule entodermiche).

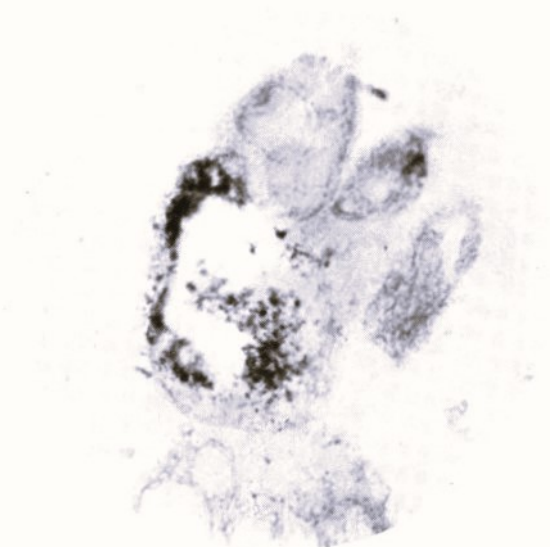


Fig. 3 - Sezione di sacco vitellino infetto. $800 \times$ circa. (Cellula entodermica ricca di Coxielle).

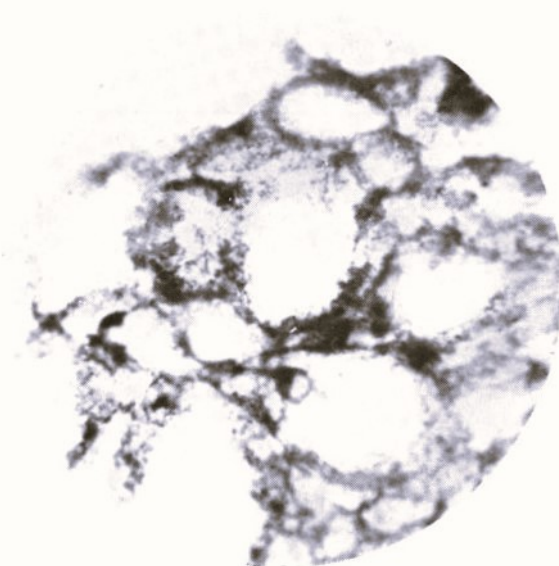


Fig. 4 - Sezione di sacco vitellino infetto, poi trattato con aureomicina. $700 \times$ circa. (Coxiella aderenti alle travate connettivali delimitanti le cellule entodermiche).

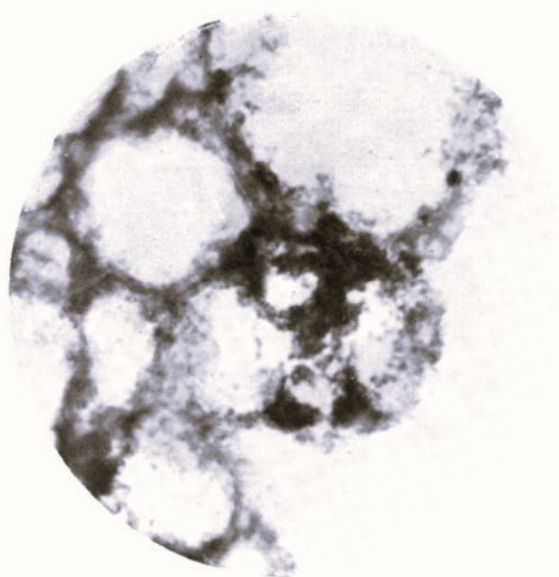


Fig. 5 - Sezione di sacco vitellino infetto, poi trattato con aureomicina. 1.000 $\times$ circa.
(Cellule entodermiche ricche di *C. burnetii*).

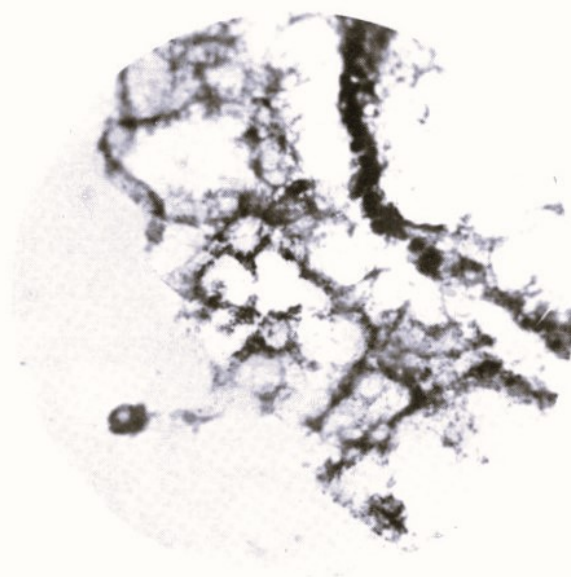


Fig. 6 - Sezione di sacco vitellino infetto, poi trattato con aureomicina. 600 $\times$ circa.
(Coxiellae aderenti alle travate connettivali delimitanti le cellule entodermiche).

- (7) PLOTZ H., SMADEL J. E., ANDERSON T. F., CHAMBERS L. A. - J. Exp. Med., 77: 355 (1943).
 - (8) WIESMANN E. - Schweiz. Z. Pathol., 11: 522 (1948).
 - (9) LIEBERMEISTER K., ZEHENDER E. - Klin. Wochens., 28: 276 (1950).
 - (10) KAUSCHE G. A., SHERIS E. - Z. Hyg. Infek., 133: 148 (1951).
 - (11) ORMSBEE R. A., PICKENS E. G. - J. Imm., 67: 437 (1951).
 - (12) WONG C. S., COX R. H. - Annals of the New York Academy of Sciences, 51: 290 (1948).
 - (13) MACCHIAVELLO A. - Rev. Chil. Higiene Med. Prev., 1: 101 (1937).
 - (14) GILDMEISTER E., PETER H. - Zbl. Bakter., 149: 475 (1943).
 - (15) BABUDIERI B. - Rend. Ist. Sup. San., 299: 292 (1943).
-