

57. Italia NERI. — Sul grado di specificità dell'ospite presentato dal *Plasmodium elongatum*.

Riassunto. — L'A. riporta la descrizione di alcune esperienze da lei eseguite per ricercare il grado di specificità presentato dal *P. elongatum* in determinate specie di uccelli.

Résumé. — L'A décrit quelques expériences qu'elle a faites pour rechercher le degré de spécificité présenté par le *P. elongatum* dans des espèces déterminées d'oiseaux.

Summary. — The A. reports the description of a few experiments she has made in order to determine the degree of specificity presented by *P. elongatum* in certain species of birds.

Zusammenfassung. — Die Verfasserin beschreibt einige von ihr gemachte Versuche zur Ermittlung des Spezifitätsgrades, den das *P. elongatum* in bestimmten Vogelarten aufweist.

Il *P. elongatum* fu descritto nel 1930 da Huff nei canarini infettati sperimentalmente dal ceppo Hartmann ⁽¹⁾.

Egli in questo lavoro e in quello successivamente pubblicato in collaborazione con Bloom ⁽²⁾ poté constatare come questo plasmodio aveva il suo ciclo schizogonico non solo nei globuli rossi, ma anche in tutti i tipi di cellule del sangue e progenitrici di cellule del sangue. Tale scoperta portò alla ripresa degli studi sulle differenze fra tutti gli altri plasmodi della malaria aviaria, e si vide che mentre in alcuni si osservava il solo ciclo endoeritrocitico, in altri un ciclo endoeritrocitico ed un ciclo endoistiocitario, il *P. elongatum* invece, appariva l'unico che oltre il ciclo endoeritrocitico presentasse anche un ciclo endoemoblastico.

Raffaele ⁽³⁾ ammise un ciclo endoistiocitario anche nel *P. elongatum* e nel 1936 fece alcune esperienze in proposito, ma la sua affermazione

⁽¹⁾ C. G. HUFF, « *Plasmodium elongatum* n. sp. an avian malarial organism with an elongate gametocyte », Amer. J. of Hyg., 11, 385-391 (1930).

⁽²⁾ C. G. HUFF & W. BLOOM, « A malarial parasite infecting all blood and blood forming cells of birds », J. of Inf. Dis., 57, 315 (1935).

⁽³⁾ G. RAFFAELE, Il doppio ciclo schizogonico di *Plasmodium elongatum*, Riv. Mal., 15, 309-317 (1936).

non fu accolta da Corradetti, il quale in un suo lavoro nel 1938 ⁽⁴⁾ sostenne che l'ammissione di Raffaele non è esatta, in quanto, secondo lui, tale studioso avrebbe erroneamente interpretato le cellule ematopoietiche parassitate da *P. elongatum* come cellule dell'apparato reticolo-endoteliale.

Huff e Bloom ⁽²⁾ precisando la natura di tutti i tipi di cellula parassitate da *P. elongatum* avevano detto che questo plasmodio è presente anche nei macrofagi per cui essendo i macrofagi elementi del R. E. ammettevano un ciclo di questo plasmodio anche in tale apparato.

Corradetti ⁽⁵⁾ fece esperienze per chiarire se realmente fosse dimostrabile uno sviluppo del *P. elongatum* nei macrofagi, ma in qualunque stadio dell'infezione, 6-27 giorni dopo l'inoculazione del sangue, non è mai riuscito ad osservare nel *P. elongatum* una moltiplicazione schizogonica del parassita che occupasse tutto il citoplasma del macrofago.

Egli osservò che i macrofagi presentavano numerosi elementi eterogenei nei vari stadi dell'infezione da *P. elongatum* per cui ritenne che i macrofagi svolgessero attività fagocitaria sui parassiti e sul pigmento. Di conseguenza Corradetti metteva in evidenza che nel *P. elongatum* è dimostrabile solo un ciclo schizogonico nelle cellule ematiche ed ematopoietiche e che un ciclo di sviluppo nelle cellule reticolo endoteliali non è osservabile.

Ricerche sulla biologia del *P. elongatum* furono fatte da Corradetti ⁽⁶⁾ in collaborazione con Gramiccia; studiando le differenze tra il ciclo nelle cellule ematopoietiche del *P. elongatum* ed il ciclo dell'apparato reticolo endoteliale degli altri plasmodi aviari, come ad es. il *P. gallinaceum* e il *P. cathemerium*, essi videro che il ciclo nelle cellule ematopoietiche del *P. elongatum* inizia quando comincia l'infezione e perdura fino a che essa si esaurisce, mentre il ciclo dell'apparato R. E. degli altri due plasmodi è un fenomeno transitorio.

⁽⁴⁾ A. CORRADETTI, « Osservazioni sul ciclo schizogonico dei Plasmodi nelle cellule dei tessuti e proposta di una nuova classificazione degli Haemosporidiidea », Riv. Parass., 2, 23-37 (1938).

⁽⁵⁾ A. CORRADETTI, « Il comportamento dei macrofagi nelle infezioni da *Plasmodium elongatum* », Rend. Ist. San. Pubbl., 3, 647-652 (1940).

⁽⁶⁾ A. CORRADETTI e G. GRAMICCIA, « Ricerche sul valore biologico del ciclo schizogonico del *plasmodium elongatum* nelle cellule ematopoietiche », Riv. Parass., 5, 5 (1941).

Essi videro inoltre che a differenza di altre specie di plasmodi, in cui durante il decorso dell'infezione nel sangue periferico si ha dapprima un attacco endoeritrocitico e poi diminuzione del numero dei parassiti fino ad ottenere un equilibrio tra parassita ed ospite, il *P. elongatum* invece non ha un attacco primario che si possa chiaramente rilevare, ma presenta un periodo di alta mortalità che va dalla prima alla quinta settimana dall'inoculazione, dopodichè si passa al periodo di equilibrio tra parassita ed ospite, con un limite numerico di parassiti in circolo molto più elevato che negli altri plasmodi.

Anche Raffaele ⁽⁷⁾ trovò un cardellino infettato da *P. elongatum*; subinoculando col sangue di questo cardellino passeri, verzellini, verdoni e cardellini trovò che nei passeri l'infezione attecchisce con difficoltà ed ha una incubazione lunghissima; mentre negli altri uccelli ebbe il 100% dei positivi.

Nel 1933 Manwell ⁽⁸⁾ fece esperienze sui pulcini inoculandoli con *P. elongatum* e con altri plasmodi e trovò che il comune pulcino *Gallus gallus* non è suscettibile all'infezione da *P. elongatum*, sebbene tale parassita possa rimanere in vita per alcune ore nel sangue del pulcino.

Nel 1938-40 la Wolfson ⁽⁹⁾ tentò di infettare anatre di due settimane di età con *P. elongatum*, *P. praecox* e *P. lophurae* ed esse si mostrarono suscettibili a tutte tre le specie di plasmodi.

La stessa ricercatrice nel 1940 ⁽⁹⁾ provò ad inoculare embrioni di pulcino ma non ebbe successo, provò allora ad inoculare embrioni di anatra con *P. elongatum*, *P. cathemerium* e *P. lophurae* e trovò che tutte e tre le specie possono svilupparsi negli embrioni di anatra.

Nel 1945 la Wolfson ⁽¹⁰⁾ ha inoculato con *P. elongatum* quasi 150 anatre di Pechino del peso di 100 e 150 grammi e ha potuto vedere che di 79 infette che furono osservate soltanto il 27% sopravvisse per 16 giorni dopo l'inoculazione.

⁽⁷⁾ G. RAFFAELE, « Un ceppo italiano di *Plasmodium elongatum* », Riv. Mal., 13, 332-337 (1934).

⁽⁸⁾ R. D. MANWELL, « The behaviour of the avian malarias in the common fowl an abnormal host », Amer. J. of Trop. Med., 13, 97-111 (1933).

⁽⁹⁾ F. WOLFSON « Avian host for malaria research », Quart. Rev. Biol., 4, 462-473 (1941).

⁽¹⁰⁾ F. WOLFSON « *Plasmodium elongatum* in the Pekin duck », Amer. J. of Hyg., 2, 268-272 (1946).

Nel presente lavoro abbiamo voluto apportare un contributo al problema del grado di specificità dell'ospite presentato dal *P. elongatum*. Abbiamo pertanto eseguito due ordini di esperienze:

un primo ordine di esperienze per determinare se il *P. elongatum* fosse in grado o no di attecchire in specie di uccelli appartenenti a famiglie ed ordini diversi.

Un secondo ordine di esperienze per determinare quanto tempo il *P. elongatum* fosse capace di sopravvivere nel sangue circolante del pulcino di *Gallus gallus* dopo l'inoculazione, usando a questo fine il metodo della subinoculazione in canarini a diversi intervalli.

MATERIALE E METODO

Nel primo ordine di esperienze ci siamo serviti delle seguenti specie di uccelli:

Canarini in gran numero (*Serinus canaria*. Fam. *Fringillidae* Ord. *Passeriformes*);

3 Tordi (*Turdus sp.* Fam. *Turdidae* Ord. *Passeriformes*);

5 Piccioni (*Columba livia*. Fam. *Columbidae* Ord. *Columbiformes*);

4 Verdoni (*Chloris chloris*. Fam. *Fringillidae* Ord. *Passeriformes*);

6 Pappagalletti (*Melopsittacus sp.* Fam. *Psittacidae* Ord. *Psittaciformes*);

2 Anatre (*Anas boschas*. Fam. *Anatidae* Ord. *Anseriformes*);

3 Storni (*Sturnus vulgaris*. Fam. *Sturnidae* Ord. *Passeriformes*).

Nel secondo ordine di esperienze ci siamo serviti di:

3 Canarini (*Serinus canaria*. Fam. *Fringillidae* Ord. *Passeriformes*);

1 Pulcino (*Gallus gallus*. Fam. *Phasianidae* Ord. *Galliformes*).

Tutti gli uccelli si tenevano in gabbie e si alimentavano secondo le loro abitudini in modo da mantenerli in vita il più a lungo possibile. Tutti gli animali usati al momento dell'inoculazione stavano in ottime condizioni di salute.

La tecnica seguita per l'inoculazione del sangue infetto è stata la seguente: dal canarino datore di *P. elongatum* si prelevavano dalla vena dell'ala o dalla vena della zampa $3/10$ di cm^3 di sangue che si mescolavano con $3/10$ di citrato di sodio. Indi si prendeva l'uccello da inoculare, lo si poneva con l'addome rivolto in alto tenendogli ferma la testa tra l'indice ed il medio, si allontanavano con un pò di ovatta bagnata le piume

dal petto e si inoculava lentamente il suddetto miscuglio nei muscoli pettorali.

Ad ogni uccello si prelevava ogni giorno mediante puntura dell'ala una goccia di sangue, se ne allestiva uno striscio che successivamente si fissava in alcool metilico e si colorava con Romanowski-Giemsa.

L'osservazione microscopica dello striscio veniva fatta ogni giorno accuratamente per almeno trenta giorni; dopo i quali se il reperto era rimasto sempre negativo, si considerava che l'infezione non aveva attecchito. In caso invece di esito positivo si seguiva ulteriormente il decorso dell'infezione sino al giorno della morte se questa avveniva, oppure sino a che l'uccello diventava ripetutamente negativo all'esame del sangue periferico.

Nel secondo ordine di esperienze furono praticate subinoculazioni in canarini con le modalità che saranno descritte con i rispettivi esperimenti.

PRIMO ORDINE DI ESPERIENZE

Tutti gli uccelli relativi a queste esperienze hanno dato esito negativo, fatta eccezione del verdone (*Chloris chloris*) in cui il *P. elongatum* si è dimostrato capace di attecchire.

Il periodo di incubazione nei verdoni si è aggirato sui 12-16 giorni e la positività è durata per i periodi qui di seguito espressi nella tabella.

PRESENZA DEI PARASSITI NEL SANGUE PERIFERICO DEI VERDONI SPERIMENTATI

Numero del Verdone	Giorno dalla data di inoculazione																				N. Totale dei giorni di posi- tività.
	12º	13º	14º	15º	16º	17º	18º	19º	20º	21º	22º	23º	24º	25º	26º	27º	28º	29º	30º		
118	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							12	
119	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	14	
883	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	16	
858	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	

Dall'esame microscopico dei preparati abbiamo potuto osservare che il *P. elongatum* durante il suo ciclo di sviluppo nel sangue del verdone si presenta dalle forme più giovani alle mature, con la normale morfologia della specie.

SECONDO ORDINE DI ESPERIENZE

Il 25 febbraio 1947 alle ore 10 e 35 minuti, inoculammo nella vena giugulare di un pulcino (n. 19) 3/10 di sangue infetto.

Alle ore 11 e 5 minuti dello stesso giorno e precisamente mezz'ora dopo furono prelevati 2/10 di cm³ di sangue dello stesso pulcino n. 19 testè inoculato che furono subinoculati nei muscoli pettorali del canarino n. 415, contemporaneamente si eseguì uno striscio di sangue del pulcino.

Alle ore 17 e 5 minuti dello stesso giorno, cioè dopo 6 ore e 30 minuti prelevammo nuovamente 2/10 di cm³ di sangue dal pulcino n. 19 e li inoculammo in un altro canarino (n. 480). Fu anche fatto uno striscio.

Alle ore 11 e 5 minuti del 26 febbraio cioè dopo 24 ore prelevammo di nuovo 2/10 di cm³ di sangue dello stesso pulcino e li inoculammo in un altro canarino (n. 63) eseguendo lo striscio di controllo.

Gli strisci di sangue prelevato dal pulcino contemporaneamente al passaggio nei canarini risultarono tutti negativi.

Dei tre canarini furono prelevati giornalmente gli strisci di sangue e di essi risultò positivo dopo 15 giorni dalla subinoculazione soltanto il numero 415 cioè il canarino inoculato col sangue prelevato dal pulcino mezz'ora dopo che questi era stato inoculato.

Gli altri due cioè il n. 63 ed il n. 480 furono sempre negativi per oltre 40 giorni.

Il n. 415 presentò una forte positività che durò per 6 giorni ed al settimo giorno morì.

Dai risultati ottenuti in queste esperienze potemmo vedere come tale plasmodio non ha la proprietà di attecchire nella specie *Gallus gallus* anche quando si tratti di animali molto giovani come quelli usati da noi (una - due settimane).

Inoltre potevamo dedurre che la sopravvivenza del *P. elongatum* nel sangue circolante di un pulcino inoculato dura meno di 6 ore e mezza, infatti la subinoculazione in canarini è stata positiva solo nell'esperienza eseguita mezz'ora dopo l'inoculazione.

Negli altri casi fu negativa a partire da 6 ore e mezza dopo l'inoculazione.

Quindi non soltanto il *P. elongatum* non attecchisce nell'ospite pulcino, ma il potere difensivo dell'organismo del pulcino verso questa specie

di plasmodio è molto forte, tanto da distruggere in breve tempo le forme parassitarie inoculate direttamente nel torrente sanguigno.

SOMMARIO E CONCLUSIONI

Dagli esperimenti eseguiti risulta:

1) Il *Plasmodium elongatum* ha attecchito nei verdoni (specie *Chloris chloris*, famiglia *Fringillidae*, ordine dei *Passeriformes*) e non ha attecchito nei seguenti uccelli:

Tordi (*Turdus sp.*, famiglia *Turdidae*, ordine *Passeriformes*);

Piccioni (*Columba livia*, famiglia *Columbidae*, ordine *Columbiformes*);

Anatre (*Anas boschas*, famiglia *Anatidae*, ordine *Anseriformes*);

Storni (*Sturnus vulgaris*, famiglia *Sturnidae*, ordine *Passeriformes*);

Pappagalletti (*Melopsittacus sp.*, famiglia *Psittacidae*, ordine *Psittaciformes*).

2) Nell'interno dell'ordine dei *Passeriformes* il *P. elongatum* ha dimostrato una specificità limitata a determinate specie poichè mentre nei verdoni che fanno parte dei *Passeriformes* ha attecchito, nei tordi e negli storni che sono dello stesso ordine non ha attecchito.

3) La sopravvivenza del *P. elongatum* nei pulcini del *Gallus gallus* che non sono suscettibili all'infezione da tale plasmodio, è durata 6 ore e mezza.

4) Le esperienze eseguite da noi sulle anatre di età già avanzata hanno avuto esito negativo, mentre quelle eseguite dalla Wolfson sui pulcini di anatra e sui loro embrioni avevano avuto esito positivo. Tali risultati ci dimostrano come la possibilità di attecchimento sperimentale del *P. elongatum* in specie non abituali sia in parte in relazione al grado di immunità naturale propria di ciascuna specie ospite, immunità, che, come è noto, può comparire od accentuarsi col crescere dell'età dell'ospite stesso.