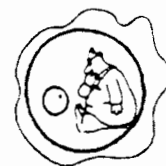


NOTIZIARIO

DELLA

SOCIETÀ ITALIANA DI PROTOZOLOGIA



o GENNAIO - DICEMBRE 1998 o

o ANNO 3. N. 1 o

o SOCIETÀ ITALIANA DI
PROTOZOLOGIA o

o Anno di fondazione, 1965 o

o Affiliata dal 1983 alla Society of
Protozoologists (U.S.A.) o

Società Italiana di Protozoologia (S.I.P.)

Fondazione della Società Italiana di Protozoologia:

la S.I.P. è stata costituita nel 1965 grazie all'impegno pionieristico del primo nucleo di soci sostenitori i Professori Tina Franceschi, Renzo Nobili, Elsa Bottazzi Massera, Bruno Schreiber.

Motivo ispiratore:

"Incrementare gli studi di Protozoologia, riunendo i cultori della materia e promuovendo il coordinamento delle loro attività".

Sede legale:

Museo di Storia Naturale e del Territorio,
Università di Pisa, Certosa, Calci, Pisa.

Consiglio Direttivo 1997-1998

P. Luporini, Camerino	Presidente
M. Gramiccia, Roma	Segretario - Tesoriere
M.U. Corrado, Genova	Consigliere
G. Dettori, Parma	Consigliere
N. Ricci, Pisa	Consigliere

Collegio dei Revisori dei conti 1997-1998

L. Gradoni, Roma	Membro effettivo
P. Madoni, Parma	Membro effettivo

Segreteria:

Dr. M. Gramiccia
Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità
Viale Regina Margherita, 299, 00161 Roma
Tel.: 06 - 49 90 30 15 Fax: 06 - 49 38 70 65
Email: gramicci@pop3.iss.it

Notiziario S.I.P.:

Comitato di Redazione: O. Coppellotti, M.U. Corrado, G. Dettori, M. Gramiccia, P. Luporini, P. Madoni, N. Ricci, A. Valbonesi, I. Viani

IN QUESTO NUMERO

Notiziario della Società Italiana di Protozoologia

- Il punto (Comitato di Redazione)

Iniziative S.I.P. a favore di giovani cultori della Protozoologia

- Presentazione del lavoro scientifico vincitore del premio in onore del Prof. Renzo Nobili per l'anno 1997 (Dr. Romina Camilli)

- Presentazione sul Notiziario S.I.P. delle Tesi di Dottorato in Protistologia: Proposta, invito (M.U. Corrado, F. Dini)

- Presentazione sul Notiziario S.I.P. delle Tesi di Dottorato in Protistologia

Tesi di Dottorato del Dr. Paolo Pelli (Genova)
Tesi di Dottorato del Dr. Andrea Morelli (Pisa)

Soci fondatori che scompaiono

- Elsa Bottazzi Massera
(Gilberto Gandolfi, Paolo Madoni)

Conferimento del Premio Patrizio Ciarmoli durante il XX Congresso SOIPA 1998

- Ricordo di Patrizio Ciarmoli
(Marina Gramiccia)

Protozoi su Internet

- Invito ai Soci S.I.P. a fornire il proprio indirizzo di Posta Elettronica (Comitato di Redazione)

Agenda - Promemoria dei Soci

- Scadenze e Convegni
- XX Congresso Nazionale

Selezione Bibliografica

Notiziario della Società Italiana di Protozoologia

Il Punto

Esce il terzo numero del nostro "Notiziario della Società Italiana di Protozoologia" che continua il suo ciclo vitale e vuole essere uno degli strumenti che la S.I.P. mette a disposizione dei propri Associati per facilitare e favorire il reciproco scambio di informazioni.

Tre numeri unici del Notiziario (uno nel 1996 e nel 1997 e questo del 1998) sono stati dati per il momento ai Soci ed è quanto si è riusciti concretamente a fare benché l'idea fosse di riuscire a distribuire ai soci un Notiziario più volte nel corso dello stesso anno.

Il Notiziario, fresco di stampa, verrà consegnato agli Associati che staranno partecipando al XIX Convegno Nazionale della Società Italiana di Protozoologia, presso l'Istituto Superiore di Sanità, a Roma, il 27 - 28 ottobre 1998. In un secondo momento, il Notiziario verrà anche inviato ai Soci che non avessero avuto la possibilità di partecipare di persona al Convegno della nostra Associazione.

Come potrete vedere, sfogliandolo, questo terzo numero del Notiziario presenta il lavoro di ricerca di tre giovani cultori della Protozoologia.

Per primo, viene proposto il lavoro scientifico della Dottoressa Romina Camilli, giovane vincitrice, per l'anno 1997, del premio in onore del Prof. Renzo Nobili, uno dei Soci fondatori della Società Italiana di Protozoologia. Vengono quindi sinteticamente presentate le Tesi del Dottorato di Ricerca in Protistologia (Biologia Sperimentale su organismi unicellulari) del Dottor Paolo Pelli (Istituto di Zoologia, Università di Genova) e del Dottor Andrea Morelli (Dipartimento di Etologia, Ecologia, Evoluzione, Università di Pisa).

Si sta in questo modo concretizzando l'iniziativa proposta da Maria Umberta Corrado e Fernando Dini di dare spazio su questo giornale agli argomenti delle tesi di dottorato di Ricerca in Protistologia (Biologia Sperimentale su organismi unicellulari). E' auspicabile che i docenti tutori dei dottorandi continuino ad accogliere l'invito loro rivolto e si adoperino a far preparare dai dottorandi un breve compendio della tesi che potrà poi essere presentata nel Notiziario SIP.

Auspicabile sarebbe anche il riuscire a proseguire l'ottima iniziativa di premiare giovani meritevoli per il lavoro di ricerca svolto in Protozoologia (vedi i premi in onore dei Professori Tina Crippa Franceschi e Renzo Nobili).

La Società Americana di Protozoologia ha festeggiato nel 1997 il cinquantesimo anno dalla fondazione (1947 - 1997). John O. Corliss ne ha tratteggiato la storia nel primo numero del Journal of Eukaryotic Microbiology di quest'anno tributando il più grande onore ai padri fondatori della Società Americana di Protozoologia che lavorando con grande entusiasmo, ne hanno assicurato il ben noto successo (JEM vol. 45, N. 1, 1998).

La Società Italiana di Protozoologia, fondata trentatré anni fa, nel 1965, 18 anni dopo quella Americana, ha ancora diversi anni davanti a sé prima di festeggiare il cinquantesimo anniversario. Gli anni stanno tuttavia passando e il primo nucleo di soci sostenitori che l'hanno fondata si è paurosamente assottigliato. In questo Notiziario, Gilberto Gandolfi e Paolo Madoni, ricordano Elsa Bottazzi Massera, cofondatrice della nostra Società, che si è spenta il 28 giugno, dopo aver concluso una lunga attività dedicata alla docenza e alla ricerca presso l'Università di Parma.

Nel Notiziario, Marina Gramiccia ricorda Patrizio Ciarmoli, un giovane brillante ricercatore, cultore della nostra disciplina, prematuramente scomparso. In suo onore è stato conferito il Premio Patrizio Ciarmoli, per una ricerca sui "Protozoi parassiti", assegnato a Roma il 18 giugno scorso, durante lo svolgimento del XX Congresso SOIPA, sotto gli auspici della Società Italiana di Parassitologia (SOIPA) e della Società Italiana di Protozoologia (SIP).

Anche in questo numero del Notiziario viene rivolto l'invito ai Soci di fornire alla Segreteria della SIP il proprio indirizzo di posta elettronica per facilitare lo scambio di informazioni tra gli associati.

Nella parte finale del Notiziario, vengono segnalate, come di consueto, date di prossimi congressi di interesse per i Protozoologi, scadenze e alcune segnalazioni bibliografiche.

A tutti, buon lavoro.

Il Comitato di Redazione

Iniziativa della Società Italiana di Protozoologia a favore di Giovani Studiosi Cultori della Disciplina

Presentazione del lavoro scientifico della Dottorssa Romina Camilli vincitrice del Premio Renzo Nobile a favore di Giovani Studiosi Cultori della Disciplina

(Premio conferito durante il XVIII Convegno Nazionale della Società Italiana di Protozoologia,
Castiglioncello (Livorno), 2-3 Ottobre 1997)

STUDIO DEL CARIOTIPO DI LEISHMANIA INFANTUM MEDIANTE PULSED FIELD GEL ELECTROPHORESIS E APPLICAZIONE CLINICA

Romina Camilli

I problemi sanitari legati alle leishmaniosi umane nel Bacino del Mediterraneo hanno mostrato di recente un aggravamento legato, tra le altre cause, a molteplici fenomeni di immunodeficienza correlati sia a fattori infettivi che chimico-farmacologici. Il dato preoccupante del moltiplicarsi di segnalazioni di co-infezioni HIV (virus dell'immunodeficienza umana)-*Leishmania* ha messo in serio allarme le autorità sanitarie nazionali ed internazionali (O.M.S., dipartimenti C.E.E. preposti). Un' urgente richiesta di "ricerca" è stata quindi stimolata per lo studio di tali co-infezioni (1) in particolare riguardo l'identificazione del parassita causa della malattia.

Diverse tecniche biochimiche e molecolari sono state utilizzate dagli anni '70 in poi a scopo tassonomico. Tra esse l'analisi elettroforetica degli isoenzimi è stata quella che ha fornito i maggiori risultati ed è attualmente considerata come tecnica standard di classificazione di *Leishmania* (2) Attraverso tale tecnica è stato possibile concludere che la leishmaniosi viscerale zoonotica e la leishmaniosi sporadica dell'area mediterranea sono causate da parassiti appartenenti alla stessa specie: *L.infantum*. Tale specie è inoltre causa di tutti i casi di co-infezione HIV-*Leishmania* riportati nell'area mediterranea (1). Proprio da tali pazienti sono stati isolati ceppi di *L.infantum* che presentavano un elevato grado di eterogeneità genetica e che suggerivano l'esistenza di scambi genici in *Leishmania* (3).

Scopo della presente ricerca è stato quello di studiare l'eterogeneità già osservata in *L.infantum* attraverso l'analisi degli isoenzimi, mediante una tecnica genotipica come la Pulsed Field Gel Electrophoresis

(PFGE)(4). Essa ha permesso di indagare sul cariotipo molecolare di *L.infantum* mostrandone un elevato grado di polimorfismo. I dati ottenuti hanno permesso di definire un "fingerprinting" originale del cariotipo molecolare per ogni ceppo esaminato.

Un altro aspetto della ricerca ha interessato l'utilizzazione sotto il profilo clinico di tali cariotipi, prendendo in considerazione soprattutto pazienti profondamente immunodepressi. E' nota infatti l'elevata suscettibilità di pazienti HIV positivi nei confronti di organismi poco o per nulla virulenti nei confronti dell'ospite immunocompetente, così come la presenza di quadri clinici totalmente atipici. In tali soggetti, inoltre le terapie tradizionali risultano poco efficaci. Ciò ha suggerito che un soggetto HIV positivo possa teoricamente albergare più di un ceppo di *Leishmania* contemporaneamente, che possa essere reinfectato facilmente, o che il parassita primario sia difficilmente eradicabile. Nel nostro caso l'utilizzo della PFGE ci ha permesso di indagare sulla natura delle ricadute degli episodi di leishmaniosi in uno stesso paziente.

Nel presente lavoro sono stati esaminati 39 ceppi di *Leishmania*, così ottenuti:

1. 30 ceppi sono stati isolati da 14 pazienti HIV positivi con leishmaniosi viscerale (LV). Di questi, 15 erano ceppi primari e 15 sono stati isolati nel corso di ricadute cliniche;

2. 2 ceppi primari sono stati isolati da 2 pazienti HIV negativi affetti da LV e da leishmaniosi cutanea (LC);
3. 7 erano ceppi di riferimento di zimodemi di *L.infantum* del Bacino del Mediterraneo.

Tutti i ceppi isolati da pazienti italiani, caratterizzati mediante analisi elettroforetica di 15 loci enzimatici, sono risultati appartenere a 11 zimodemi di *L.infantum*.

L'analisi delle bande cromosomiche (cariotipo) dei ceppi è stata standardizzata mediante PFGE. La definizione completa di ogni pattern (da 225 a 2200 Kilobasi) ha richiesto 5 corse elettroforetiche a diverse condizioni di impulso. Tutti i ceppi hanno mostrato la risoluzione di una media di 25 bande, con un massimo di 30.

Ognuno dei 17 isolati primari di *Leishmania* ha mostrato un cariotipo originale, che si è rivelato del tutto riproducibile anche quando gli isolati venivano mantenuti in coltura per oltre un anno o scongelati da azoto liquido. L'esame del pattern cariotipico è stato applicato per l'analisi di tre situazioni cliniche:

a) *Presenza contemporanea di LV e LC in uno stesso paziente HIV positivo* - Lo studio del cariotipo di 2 ceppi isolati contemporaneamente dallo stesso paziente ma da diversi materiali biotici (biopsia midollare e biopsia cutanea) ha mostrato l'identità eziologica delle due manifestazioni;

b) *Ipotesi di trasmissione di Leishmania per siringa* - L'analisi di 2 ceppi isolati da 2 fratelli entrambi HIV positivi, tossicodipendenti, residenti nella stessa località e affetti da LV ha mostrato che gli agenti parassitari erano diversi e che probabilmente l'infezione è stata contratta tramite insetto vettore;

c) *Natura (ricidiva o reinfezione) di ricadute cliniche di LV* - Per 8 pazienti HIV positivi che avevano mostrato una o più ricadute cliniche dopo terapia farmacologica, sono stati confrontati i cariotipi di altrettanti isolati primari e di 15 isolati successivi ottenuti nel corso di 1 mese - 2 anni.

L'analisi condotta ha mostrato che: 5 pazienti avevano avuto probabilmente una recidiva, causata dalla stessa popolazione clonale primaria; 2 pazienti avevano avuto probabilmente una recidiva, ma causata dall'espansione di una popolazione clonale scarsamente rappresentata nel ceppo primario; per 1 paziente, l'ultima di 3 ricadute cliniche potrebbe essere stata causata da una reinfezione, sovrapposta ad una popolazione clonale preesistente.

I risultati relativi agli ultimi tre pazienti sono stati confermati dall'analisi di un totale di 21 cloni ottenuti a partire dai ceppi primari. Tutti i cloni sono risultati appartenere allo stesso zimodema del ceppo primario ma nessuno di essi ha mostrato un cariotipo identico rispetto al ceppo parentale, anche se tale diversità varia a seconda del gruppo di ceppi. Inoltre sono state riscontrate variazioni rispetto al ceppo parentale che si osservano nei ceppi successivi.

In conclusione, l'assetto genotipico rivelato dalla PFGE presenta quelle caratteristiche di stabilità, riproducibilità e sensibilità clonale utili ad una applicazione di tipo clinico ed epidemiologico. L'analisi prospettica degli isolati ottenuti da uno stesso paziente ha rappresentato l'aspetto più stimolante del nostro studio visto che coinvolge il problema più vasto sull'efficacia di trattamenti terapeutici nei confronti di una LV in pazienti immunocompromessi. Infatti, per determinare tale efficacia in trial clinici, è essenziale un riscontro parassitologico in corso di follow-up. Il reperimento di *Leishmania* a tempi più o meno lunghi dalla fine del trattamento, comporta sempre il quesito se si tratti di una recidiva (e quindi l'insuccesso della terapia) o di una reinfezione. Una terza ipotesi è che una reinfezione si sovrapponga all'infezione primaria. La PFGE si è rivelata essere quindi, una tecnica valida per rispondere a questo tipo di quesiti. In prospettiva sarà interessante studiare se le variazioni cromosomiche riscontrate possano essere correlate a fenomeni selettivi operati dal farmaco.

Riferimenti bibliografici.

1. World Health Organization (1995). Report on the Consultative Meeting on HIV/Leishmania co-infections. Rome 6-7 september 1994, *WHO/LEISH/95.35*, WHO, Geneva, pp. 1-14.
2. Rioux J.Z., Lanotte G., Serres E., Pratlong F., Bastien P., Perières J. (1990). Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 65:111-125.
3. Gramiccia M., Gradoni L., Troiani M. (1995). Heterogeneity among zymodemes of *Leishmania infantum* from HIV-positive patients with visceral leishmaniasis in South Italy. *FEMS Microbiology Letters*, 128:33-38.

4. Schwartz D.C., Cantor C.R. (1984). Separation of yeast chromosome sized DNAs by Pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis. *Cell*, 37:67-75.
5. Bastien P., Blaineau C., Pagès M. Molecular karyotype analysis in *Leishmania*. (1992). *Subcellular Biochemistry*, Vol. 18: Intracellular parasites. Plenum Press, New York, pp.131-187.

**Dottorato di Ricerca in Protistologia
(Biologia sperimentale su organismi unicellulari)**

Proposta, invito

I docenti tutori dei dottorandi del X ciclo sono caldamente invitati a far preparare dai propri dottorandi un breve compendio della tesi che dovrà essere inviato insieme con i dati essenziali (nome del candidato, titolo e data di discussione della tesi) alla Segreteria della S.I.P.: Dott.ssa Marina Gramiccia, Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma.

Tel. 06 - 49 90 39 15 Fax: 06 - 49 38 70 65 Email: gramicci@pop3.iss.it

Maria Umberta Corrado, Fernando Dini

Alla iniziativa presentata nello scorso numero del Notiziario da Maria Umberta Corrado e da Fernando Dini hanno per il momento aderito il Dr. Paolo Pelli (Genova) e il Dr. Andrea Morelli (Pisa).

Il Dr. Paolo Pelli e il Dr. Andrea Morelli hanno gentilmente preparato un breve compendio delle rispettive Tesi di Dottorato che viene qui di seguito presentato.

**Dottorato di Ricerca in Protistologia
(Biologia sperimentale su organismi unicellulari)**

Tesi di Dottorato

I Nuclei dei Colpodidae: Studio della Cromatina e dei suoi Processi di Riorganizzazione
(Tesi di Dottorato discussa il 3 Luglio 1997)

Paolo Pelli

Istituto di Zoologia, Università di Genova

Argomento di questa tesi è lo studio comparato della cromatina del micronucleo, del macronucleo e dei corpi di espulsione macronucleare in cellule di *Colpoda inflata* (Ciliophora, Colpodidae),

eseguito utilizzando la citofotometria statica e l'analisi d'immagine.

Obiettivo del lavoro è lo studio dei processi di riorganizzazione del macronucleo, che si attuano entro

la cisti di riposo e durante il disincistamento attraverso il duplice meccanismo di sintesi di DNA e di espulsione di cromatina dal macronucleo (2, 4). Questa indagine è stata suggerita da uno studio precedente nel quale si era ottenuto il "ringiovanimento" di linee "senescenti" attraverso un prolungato incistamento di riposo (3).

La sperimentazione si è riferita a due differenti popolazioni di cellule: una, denominata "standard", proveniva da colture mantenute in fase logaritmica di crescita per un centinaio di scissioni, l'altra, denominata "senescente", da colture che, avendo compiuto un elevato numero di scissioni (circa seicento), manifestavano il declino del ritmo riproduttivo. Sono state esaminate cellule in fase logaritmica di crescita, nella transizione all'incistamento di riposo, nel corso dell'incistamento, nelle prime fasi del disincistamento e provenienti da colture "senescenti" incistate da un anno.

Le misure sono state effettuate su campioni sottoposti a colorazione di Feulgen, mediante l'analizzatore d'immagine CAS 200 della Becton Dickinson provvisto di un modulo software CMP versione 1.2 (1). Le immagini sono state acquisite in luce trasmessa per mezzo di una camera CCD attraverso un filtro a banda passante di 620 nm.

Sono stati misurati i parametri morfometrici e densitometrici dei macronuclei e dei corpi di espulsione macronucleare, oltre a 22 variabili Markoviane che quantificano caratteristiche strutturali della cromatina (5). Tutte le misurazioni sono state sottoposte ad analisi univariata e le medie confrontate mediante il test *t* di Student.

Riferimenti bibliografici

I risultati più rilevanti riguardano il macronucleo e si possono così riassumere:

1) Significativa diminuzione della condensazione della cromatina in cellule precistiche, presumibilmente indice di intensa attività trascrizionale, e sensibile aumento del contenuto di DNA in cisti di 25-26 giorni derivanti da colture standard.

2) Effetto regolativo del disincistamento sul contenuto di DNA, in cisti di differenti età derivate da colture standard.

3) Significativo aumento del contenuto di DNA nella transizione da cellule standard a cellule senescenti iniziali e successiva drastica diminuzione al progredire della senescenza.

4) Nessuna diminuzione del contenuto di DNA durante l'anno di incistamento, nonostante il ripetersi di numerose espulsioni macronucleari.

5) Recupero del ritmo di scissione e del contenuto di DNA standard in cellule "ringiovanite".

6) Aspetti significativi del "ringiovanimento": recupero del ritmo riproduttivo, del contenuto medio di DNA e della sua varianza a valori standard, particolarmente evidenti in cellule caratterizzate da tempi lunghi di disincistamento.

In conclusione, si può affermare che il ciclo incistamento-disincistamento è un processo altamente dinamico che comporta sintesi di DNA, estrusione di corpi cromatinici e variazione di numerosi parametri strutturali della cromatina.

Tali aspetti, alterati in cellule "senescenti", vengono verosimilmente recuperati in cellule "ringiovanite".

1. Bacus J. W., Grace L. J.: *Applied Optics* 26, 3280-3293, 1987.
2. Chessa M. G., Delmonte Corrado M. U.: *Arch. Protistenkd.* 144, 207-211, 1994.
3. Franceschi Crippa T.: *Atti Accad. Lig. Sci. Lett.* 24, 93-96, 1967.
4. Morat G., Chessa M. G., Crippa Franceschi T.: *Protistologica* 17, 313-329, 1981.
5. Pressman N. J.: *J. Histochem. Cytochem.* 24, 138-144, 1976.

Dottorato di Ricerca in Protistologia (Biologia sperimentale su organismi unicellulari)

Tesi di Dottorato

***Litonotus-Euplotes*: un modello di laboratorio per lo studio delle interazioni interspecifiche
Predatore-Preda nei Protozoi Ciliati.**
(Tesi di Dottorato discussa il 3 Luglio 1997)

Andrea Morelli

Dipartimento di Etologia, Ecologia, Evoluzione, Via Volta 4 56126 Pisa.

INTRODUZIONE

La predazione è una forma di interazione interspecifica molto praticata nell'ambito dei protisti, soprattutto tra le amebe e tra i ciliati: trattasi di una predazione attiva, che comporta la cattura delle prede mediante specifici organuli estrusivi contenenti sostanze tossiche, le toxicisti (Hausmann, 1978). Dragesco (1962), Miller (1968), Fenchel (1968), Wessenberg & Antipa (1970) Seshachar et al. (1971) hanno descritto dettagliatamente il comportamento di molti ciliati predatori, mentre Berger (1979), Esteve (1982), Orlovskaja et al. (1984), Harumoto & Miyake (1994) hanno osservato che i predatori sono in grado di discriminare le prede grazie a recettori esposti sulla membrana plasmatica e sensibili a trattamenti con lectine, enzimi proteolitici e detergenti.

Dal 1985 il gruppo di ricerca del Prof. Verni studia la predazione del protozoo *Litonotus lamella* (superclasse: Rhabdophora; classe: Litostomatea; sottoclasse: Haptoria) su ciliati appartenenti al genere *Euplotes* (superclasse: Postciliodesmatophora; classe: Spirotrichia; sottoclasse: Hypotrichida) come modello d'interazione interspecifica. In laboratorio il predatore mostra una spiccata preferenza alimentare, dal momento che si nutre solamente di ciliati appartenenti alle specie *Euplotes crassus*, *Euplotes vannus*,

Euplotes minuta ed *Euplotes raikovi*. Gli studi compiuti dimostrano che l'interazione predatore-preda *Litonotus-Euplotes* è governata dal riconoscimento cellulare specie-specifico che avviene al momento del contatto tra i due organismi (Verni, 1985; Giambruni & Verni, 1986; Ricci & Verni, 1988; Verni & Rosati, 1992; Ricci & Verni, 1994). In tale riconoscimento risiede probabilmente la causa della specificità alimentare del predatore.

Lo scopo della tesi è di investigare gli aspetti non ancora noti di maggior interesse sia per codesta interazione predatore-preda, che per il campo più generale delle interazioni cellulari. Tali aspetti sono i seguenti:

- Eventuale interazione a distanza;
- Eventi susseguenti al contatto predatore-preda;
- Azione delle toxicisti sulla preda; quest'ultimo aspetto, che presupponeva l'analisi elettrofisiologica dell'effetto della scarica delle toxicisti sulla membrana di *Euplotes vannus* è stato studiato presso il Dipartimento di Zoofisiologia dell'Università di Osnabrück (Germania), in collaborazione con il gruppo di ricerca del Prof. Wolfgang Lueken.

RISULTATI

L'interazione a distanza predatore-preda è stata esaminata mediante semplici ma efficaci labirinti a T di perspex riempiti di acqua di mare sintetica. Ad una estremità (braccio sperimentale od "E") del labirinto pescava una pipetta Pasteur modificata contenente il trattamento (con l'estremità occlusa da uno spesso tappo di cotone), mentre all'estremità opposta c'era una pipetta identica riempita con acqua di mare sintetica sterile (braccio di controllo o "C"). L'esperimento tipo consisteva nell'osservare la distribuzione dei predatori nel labirinto in risposta a colture cellulari od ai rispettivi mezzi di coltura. Dagli esperimenti con le colture cellulari risultava l'esistenza di tre livelli di chemoattrazione: al primo vi erano le specie più efficaci, *E. crassus* ed *E. vannus*; al secondo le specie poco efficaci, *E. minuta*, *E. raikovi* ed *E. charon*; infine il terzo livello era contraddistinto da specie che non inducevano alcun tipo di reazione ovvero *E. magnicirratu*s, *E. rariseta*, *Euplotidium itoi*, *Aspidisca* sp., *Diophrys* sp. Tra le specie che attiravano i predatori, l'unica ad essere ignorata al momento del contatto era *E. charon*. Inoltre il trattamento dei predatori con l'enzima proteolitico ficina o la lectina Concanavalina A (Con A) induceva una loro distribuzione casuale nel labirinto, suggerendo così l'esistenza di recettori glicoproteici di membrana. Anche il mezzo di coltura acellulare (CFF) di *E. crassus* si rivelava efficace nell'attrarre i predatori: in particolare la frazione del CFF di peso molecolare compreso tra 20,000 e 30,000 Dalton era la più efficace, mentre l'attrazione era debole nella frazione 10,000-20,000 Da e inesistente nelle frazioni 0-10,000 Da e superiori a 30,000 Da. L'attività attraente del CFF era abolita dal blando riscaldamento e dal trattamento con l'enzima proteolitico pronasi e quindi il fattore responsabile dell'attrazione è di natura proteica, con un peso molecolare intorno a 20,000 Da.

Gli effetti della sostanza proteica sulla locomozione di *L. lamella* erano studiati mediante la tecnica standard dell'etogramma per i protozoi ciliati (Ricci, 1992). A tal fine erano compilati tre etogrammi ricavati dalle tracce videoregistrate dei predatori in tre diverse situazioni: predatori in assenza di stimoli (A), lontano dalla sorgente di CFF (B), vicino alla sorgente di CFF (C). L'elaborazione statistica delle tracce dimostrava l'esistenza di differenze significative a carico dei parametri locomotori, in grado di spiegare l'insorgere della risposta di accumulo osservata nell'etogramma C. Tali differenze rispetto al controllo riguardavano (i) una maggiore curvatura ed una minore velocità degli archi destrorsi, (ii) una maggiore durata degli archi sinistrorsi, (iii) maggior durata e lunghezza dei

segmenti, (iv) una diminuzione dell'angolo di correzione della reazione di evitamento, (v) la comparsa di un nuovo modulo comportamentale definito "Long Exploring Pattern" (LEP) caratterizzato da una serie di stop improvvisi-retromarcia-rotazione, la cui frequenza, durata e angolo di correzione aumentava passando dall'etogramma B al C. Riassumendo questi cambiamenti testimoniavano una variazione della geometria della traccia, che diveniva più irregolare e contorta man mano che aumentava l'intensità dello stimolo. Tali cambiamenti, che cominciavano a verificarsi a notevole distanza dalla sorgente di CFF (come dimostrato dall'etogramma B), permettevano di concludere che il predatore si avvicina alla preda con un meccanismo chemocinetico.

La fase di interazione diretta era studiata trattando i predatori o le prede con sostanze che interagiscono con la membrana plasmatica, ovvero le lectine Con A, Wheat Germ Agglutinin (WGA), Soy Bean Agglutinin (SBA), la ficina, e l'allossana, inibitore dell'adenilato ciclasi. Il trattamento con la SBA (1%, 1 ora) o con la ficina (a carico sia dei predatori che delle prede) non alterava il normale comportamento predatorio di *L. lamella*, mentre il trattamento dei predatori con Con A (0,5%, 2 ore) o con la WGA (1%, 1 ora) causava un aumento della frequenza di scarica delle toxicisti su esemplari di *Euplotes magnicirratu*s (normalmente ignorati) che però non erano mai ingeriti. I dati suggeriscono un doppio riconoscimento della preda da parte del predatore, al momento del contatto (alterato dalla Con A e WGA), ed al momento dell'ingestione (non influenzato dalle lectine).

Il trattamento con allossana colpiva la fase di ricerca della preda susseguente alla scarica delle toxicisti: i predatori trattati vagavano per il vetrino senza ritrovare la preda colpita. L'indagine citochimica effettuata dimostrava che in questa fase della predazione l'adenilato ciclasi è attiva.

Il trattamento dei predatori con nocodazolo (inibitore dell'assemblaggio dei microtubuli) o con citocalasina B (droga che rompe i filamenti di F-actina e ne impedisce il ri-assemblaggio) inibiva l'ingestione. La tecnica d'immunofluorescenza indiretta per evidenziare la tubulina rivelava nel predatore una grande struttura a canestro (*Peristomial Basket*, PB) costituita da un'anello di microtubuli lungo il perimetro del citostoma da cui partono fasci che si addentrano nel citoplasma; il canestro scompariva in seguito al trattamento con nocodazolo. L'indagine ultrastrutturale metteva in evidenza, in posizione sottocorticale, la *Lamina Corticalis* (LC), costituita

da actina, che scompariva dopo il trattamento con citocalasina B. Le due strutture lavorano in maniera sinergica: il PB consente l'apertura del citostoma, mentre la LC è responsabile dei movimenti peristaltici che rendono possibile la "deglutizione" della preda.

L'effetto della scarica delle toxicisti sulla membrana di *E. vannus* era studiato dal punto di vista elettrofisiologico: l'esperimento consisteva nell'impalare un esemplare con un microelettrodo e nel monitorare l'andamento del potenziale di membrana (V_m), la risposta ad iniezioni di correnti e la resistenza di membrana, prima dell'aggiunta dei predatori e durante la predazione. Al momento della scarica delle toxicisti il V_m della preda subiva una depolarizzazione (da -35 mV a -5 mV), la membrana non era più capace di rispondere agli stimoli di corrente in maniera attiva, e la resistenza era pressoché azzerata. Questo quadro era consistente con una totale ed irreversibile apertura di tutti i canali ionici presenti sulla membrana di *E. vannus*, dovuta ad una tossina rilasciata con la scarica. L'applicazione della tecnica del *Voltage-Clamp* permetteva di isolare l'effetto netto di questa tossina, mediante il blocco del V_m : in queste condizioni era evidente l'induzione di una corrente in entrata nella cellula (*inward*), la cui intensità aumentava col procedere della predazione.

CONCLUSIONI

Le osservazioni riportate in questa tesi consentono di ampliare il modello dell'interazione *Litonotus-Euplotes* descritto da Ricci & Verni (1994). Il primo passo è la recezione della molecola rilasciata nel mezzo dalla preda, ed affidata probabilmente a glicoproteine di membrana. La risposta motoria del predatore alla molecola è una cinesi e tale comportamento è efficace nel condurre il predatore in vicinanza della preda. Al momento del contatto il predatore riconosce la preda mediante dei siti glucidici e scarica su di essa le sue toxicisti; a questo punto altri predatori convergono sul luogo del "delitto", attivati dalla sostanza "epsilon". La tossina delle toxicisti causa la paralisi della preda attivando le conduttanze di membrana o creando dei pori per l'entrata degli ioni calcio, invalidando ogni possibile risposta omeostatica della preda. La tossina, diffondendosi nell'ambiente, arriverebbe ad altri *Euplotes*, inducendo in loro una reazione di evitamento. In seguito alla scarica delle toxicisti è attivo il sistema cAMP-adenilato ciclasi, che "guida" il predatore verso la preda immobile, forse traducendo il segnale generato dalla recezione della sostanza "epsilon". Infine, una volta raggiunta la preda, il predatore apre il citostoma mediante il PB, riconosce la preda a livello del citostoma e, tramite i movimenti generati dalla LC, la ingerisce.

BIBLIOGRAFIA

- Berger J. (1979). The feeding behavior of *Didinium nasutum* on an atypical prey ciliate (*Colpidium campylum*). *Trans. Amer. Micros. Soc.*, 98: 487-494.
- Dragesco J. (1962). Capture et ingestion des proies chez les infusoires ciliés. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 96: 123-167.
- Esteve J.C. (1982). Défaillance de contrôle du comportement alimentaire chez les ciliés gymnostomes *Dileptus* et *Lacrymaria*. *Protistol.*, 18: 517-526.
- Fenchel T. (1968). The ecology of marine microbenthos II. The food of marine benthic ciliates. *Ophelia*, 5:73-121.
- Giambriani A. & Verni F. (1986). Studio ultrastrutturale delle toxicisti del ciliato predatore *Litonotus lamella*. *Boll. Zool.*, 53: abstract 20.
- Harumoto T. & Miyake A. (1994). Why is the carnivorous ciliate *Dileptus margaritifer* immune from self attacks? *J. Euk. Microbiol.*, 41: abstract 15.
- Hausmann K. (1978). Extrusive organelles in protists. *Inter. Rev. Citol.*, 52: 197-276.
- Miller S. (1968). The predatory behavior of *Dileptus anser*. *J. Protozool.*, 15:313-319.
- Orlovskaja E.E., Karvanen L.N. & Seravin L.N. (1984). Susceptibility of food chemoceptors in carnivorous protozoa. *Acta Protozool.*, 23: 197-211.
- Ricci N. (1992). Qualitative and quantitative analysis of behavior of ciliated protozoa: principle, techniques, tricks. In: *Protocols in Protozoology*. J.J. Lee & A.T. Soldo Eds., Soc. Protozool., Allen Press, Lawrence, Kansas, 14.1-14.16.
- Ricci N. & Verni F. (1988). Motor and predator behavior of *Litonotus lamella* (Protozoa, Ciliata). *Can. J. Zool.*, 66: 1973-1981.
- Ricci N. & Verni F. (1994). Experimental perturbations of the *Litonotus-Euplotes* predator-prey system. *Zool. Sci.*, 11: 399-406.
- Seshachar B.R., Saxena K.N. & Girglal H. (1971). Some factors governing feeding behavior of *Homalozoon vermiculare* (Ciliophora, Holotricha). *J. Protozool.*, 18: 90-95.
- Verni F. (1985). *Litonotus-Euplotes* (predator-prey) interaction: ciliary structure modifications of the prey caused by toxicysts of the predator (Protozoa, Ciliata). *Zoomorph.*, 105: 333-335.
- Verni F. & Rosati G. (1992). A comparative study of digestion in a raptorial ciliate and in the facultative carnivorous form of a filter feeding ciliate. *Tissue and Cell*, 24: 443-453.
- Wessenberg H & Antipa G. (1970). Capture and ingestion of *Paramecium* by *Didinium nasutum*. *J. Protozool.*, 17: 250-270.

Soci fondatori che scompaiono: Professoressa Elsa Bottazzi Massera

La Società Italiana di Protozoologia ha perso quest'anno, il 28 di giugno, uno dei Soci fondatori, la Professoressa Elsa Bottazzi Massera che da pochi anni aveva concluso una lunga attività dedicata alla docenza e alla ricerca presso l'Università di Parma.

Elsa Bottazzi Massera conseguì la laurea in Scienze Naturali nel 1949 e nell'anno successivo, a soli 24 anni, le fu conferito l'incarico di insegnamento di Biologia generale, che mantenne senza interruzione per diciassette anni accademici. Di seguito, fu dapprima incaricata per nove anni dell'insegnamento di Anatomia comparata e quindi incaricata stabilizzata di Zoologia I. Nel 1982 superò il giudizio di idoneità a professore associato di Zoologia e nel 1987 vinse il concorso a professore ordinario per la stessa materia. Ricoprì questo ruolo fino al 1994, quando cessò per volontarie dimissioni dal servizio.

La sua attività di ricerca fu rivolta inizialmente a problemi di sistematica degli Acari. Con l'arrivo a Parma del Prof. Bruno Schreiber, di cui fu la prima allieva e la principale collaboratrice, si dedicò inizialmente allo studio di problemi di osteoinduzione negli Anfibi. Alla fine degli anni '50 Elsa Bottazzi Massera iniziò una vasta e proficua produzione scientifica nel settore della Biologia marina, dedicandosi a studi di sistematica e di ecologia degli Acanthari. Divenne in questa sua attività di ricerca una specialista apprezzata a livello mondiale, come dimostrano i continui contatti con la Woods Hole Oceanographic Institution ed altri prestigiosi Istituti che si avvalevano delle sue competenze inviandole campioni di Acanthari raccolti in diverse e importanti crociere oceanografiche. Di particolare significato furono le ricerche che le consentirono di identificare il ruolo svolto dagli Acanthari come indicatori biologici della circolazione di radionuclidi nelle catene trofiche delle biocenosi marine.

Fu tra i soci fondatori della Società Italiana di Protozoologia e organizzò a Parma, alla fine degli anni '70, uno dei primi convegni scientifici della Società.

Negli ultimi anni dell'attività di ricerca ha allargato il suo settore di competenze anche allo studio delle comunità di animali planctonici dei mari italiani, producendo contributi utili alla conoscenza della distribuzione e dell'ecologia di questi organismi.

La sua scomparsa ha suscitato partecipazione e commozione tra i colleghi, gli amici e gli allievi che, accanto ai suoi meriti scientifici, ricordano con rimpianto le sue doti umane, la sua attitudine al dialogo e a un rapporto rispettoso con il prossimo e i modi del suo porgersi, improntati a discrezione e gentilezza.

Gilberto Gandolfi

Paolo Madoni

Conferimento del Premio Patrizio Ciarmoli

Durante lo svolgimento del XX Congresso della Società Italiana di Parassitologia, che si è tenuto a Roma il 17 - 20 giugno 1998, sotto gli auspici della Società Italiana di Parassitologia (SOIPA) e della Società Italiana di Protozoologia (SIP), è stato assegnato il Premio Patrizio Ciarmoli per una ricerca avente come tema di studio i "Protozoi parassiti".

Il premio è stato conferito il 18 giugno 1998 al Dr. Giacomo Rossi, Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, Università di Pisa, per la sua attività di ricerca inerente "Lo studio biopatologico nell'interazione tra protozoo parassita/ospite in due nuove specie di Isospora".

Roma 18 giugno 1998. Premio Patrizio Ciarmoli.

Questo premio viene assegnato in memoria del Dott. Patrizio Ciarmoli, un brillante ricercatore scomparso prematuramente all'età di 33 anni nel marzo 1996. Studente della Facoltà di Medicina, si è appassionato allo studio della Parassitologia frequentando le lezioni del Prof. Mario Coluzzi che lo indirizzò al nostro Laboratorio nel 1984 per iniziare una tesi di laurea sperimentale della quale ebbi il privilegio di essere la sua relatrice. Il dott. Ciarmoli fu inizialmente indirizzato allo studio di anticorpi monoclonali specifici per *Leishmania*. L'entusiasmo mostrato nella ricerca e l'esperienza di laboratorio acquisita in breve tempo gli permisero di inserirsi a pieno titolo in un progetto OMS/TDR per la produzione di leishmanine ad uso umano da distribuire a gruppi di ricerca internazionali operativi nel campo dell'epidemiologia delle leishmaniosi. Le sue ricerche, oggetto successivo della sua Tesi di Laurea, conseguita nel 1993 a pieni voti, hanno permesso la standardizzazione dei metodi procedurali e l'effettiva produzione di due leishmanine, una per *Leishmania infantum*, l'altra per *Leishmania major*, altamente reattive ed efficaci, che sono state distribuite per conto dell'OMS a 36 gruppi di ricerca distribuiti in quattro continenti. Dopo la Laurea, risultò vincitore di una borsa di Specializzazione in Malattie Infettive presso la I Facoltà di Medicina dell'Università di Napoli, dove ha proseguito i suoi studi sulle coinfezioni HIV-*Leishmania* e sul trattamento farmacologico della leishmaniosi viscerale con l'amfotericina B liposomiale. Non ha potuto conseguire il Diploma di Specializzazione per la prematura scomparsa. Oltre ai suoi meriti scientifici, Patrizio viene ricordato da tutti noi per la sua estrema disponibilità, per il carattere gioioso ed estroverso, per la sua grande umanità. La sua è per noi un'assenza di quelle impossibili da dimenticare.

Marina Gramiccia

Protozoi su Internet - Invito ai Soci S.I.P. a fornire il proprio indirizzo di Posta elettronica (indirizzo E-mail)

E' questo un invito ai Soci a fornire alla Segreteria della nostra Società i propri indirizzi di posta elettronica in modo da garantire uno scambio di informazioni tra gli Associati più efficace, rapido e meno costoso se paragonato a quelli tradizionali.

Qui di seguito, è inserito un secondo parziale elenco di indirizzi di posta elettronica di alcuni soci S.I.P. Gli indirizzi sono stati in parte tratti dalla home page della Società americana di Protozoologia (indirizzo: <http://www.uga.edu/protozoa/>) e in parte provengono da scambi informali interpersonali.

Indirizzi di Posta elettronica di alcuni dei Soci S.I.P.: secondo e parziale elenco

Cognome	Nome	Indirizzo E-mail personale	Indirizzo E-mail Istituzione	Città
Albergoni	Vincenzo	biopod09@bio.unipd.it		Padova
Calderaro	Adriana		micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Cappuccinelli	Piero		microb@ssmain.uuiss.it	Sassari
Chessa	M. Giovanna		zoologia@igecuniv.cisi.unige.it	Genova
Coppellotti	Olimpia	olimpiak@civ.bio.unipd.it		Padova
Corrado	M. Umberta		zoologia@igecuniv.cisi.unige.it	Genova
Dettori	Giuseppe	gdettori@ipruniv.cce.unipr.it	micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Fiori	Luigi		microb@ssmain.uuiss.it	Sassari
Galati	Lucia		micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Gramiccia	Marina	gramicci@pop3.iss.it		Roma
Luporini	Pierangelo	luporini@cambio.unicam.it		Camerino
Madoni	Paolo	madoni@dsa.unipr.it		Parma
Miceli	Cristina	miceli@cambio.unicam.it		Camerino
Paleari	Laura		merlo@sirio.cba.unige.it	Genova
Politi	Huguette		zoologia@igecuniv.cisi.unige.it	Genova
Pozio	Edoardo	pozio@pop3.iss.it		Roma
Ramoino	Paola		zoologia@igecuniv.cisi.unige.it	Genova
Ricci	Nicola		zoL@icnucevm.cnuce.cnr.it	Pisa
Tagliaferro	Grazia	tgfgra@unige.it	anaco@unige.it	Genova
Trielli	Francesca		zoologia@igecuniv.cisi.unige.it	Genova
Valbonesi	Alessandro	valbo@cambio.unicam.it		Camerino
Verni	Franco	f.verni@discat.unipi.it		
Viani	Isabella		micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Viarengo	Aldo	aldo@igecuniv.csita.unige.it		Genova

Convegni

- 26 - 30 luglio 1999 3rd Congress of Protistology and 9th European Conference on Ciliate Biology, Helsingor (DK)
23 - 27 agosto 1999 3rd International Symposium on Phlebotomine Sandflies, Montpellier, Francia
2001 International Congress of Protozoology, Jerusalem, Israel

Agenda

ANNO	MESE	- Promemoria dei Soci SIP
1999	2	28-2-1999. - I Soci sono tenuti a versare la quota sociale entro il primo bimestre di ogni esercizio finanziario. Termine ultimo: 28-2-'99.
	6	
		? settembre. II Riunione Scientifica Nazionale SIP.
	10	
	12	31-12-'99. - Chiusura Esercizio Finanziario 1999 - Preparazione Bilancio Consuntivo 1999 - Preparazione Bilancio Preventivo 1999

Selezione Bibliografica

oDecamp O. & Warren A., 1998. Bacterivory in ciliates isolated from constructed wetlands (reed beds) used for wastewater treatment. **Wat. Res.**, 32, N. 7, 1989-1996.

Abstract -E' stata studiata l'attività predatoria dei ciliati batteriofagi, isolati da lagune artificiali in cui si trattano i liquami col metodo della rizosfera (*Phragmites*), attraverso la misurazione dei loro tassi di ingestione, soprattutto di *Escherichia coli*. I più elevati tassi di ingestione si osservavano in *Paramecium* spp. (1.85 cell./min), che erano anche i ciliati a maggior taglia tra quelli utilizzati nello studio, seguiti da quelli degli oxytrichidi (1.104 cell./min), *Halteria* (0.648 cell./min) e scuticociliati (0.433 cell./min), i più piccoli ciliati impiegati nello studio. I tassi di ingestione più bassi si osservavano nei ciliati anaerobici *Plagiopyla* e *Caenomorpha*, anche se le condizioni sperimentali non erano favorevoli per queste specie. Da questo studio emerge che tutti i ciliati utilizzati erano capaci di rimuovere *E. coli* dal liquame trattato nelle lagune artificiali che utilizzano il metodo della rizosfera. Comunque, è improbabile che i ciliati mantengano *in situ* continuamente i massimi tassi di ingestione. Si ipotizza, infatti, che una varietà di altri processi biotici e abiotici siano implicati nella rimozione di batteri patogeni e indicatori quali *E. coli*.

