



A. NAZARI

SULL'AZIONE PATOGENA

DEI BLASTOMICETI

COME CONTRIBUTO ALL'ETIOLOGIA DEI TUMORI MALIGNI

NOTA PRELIMINARE

DEL

Prof. FRANCESCO SANFELICE

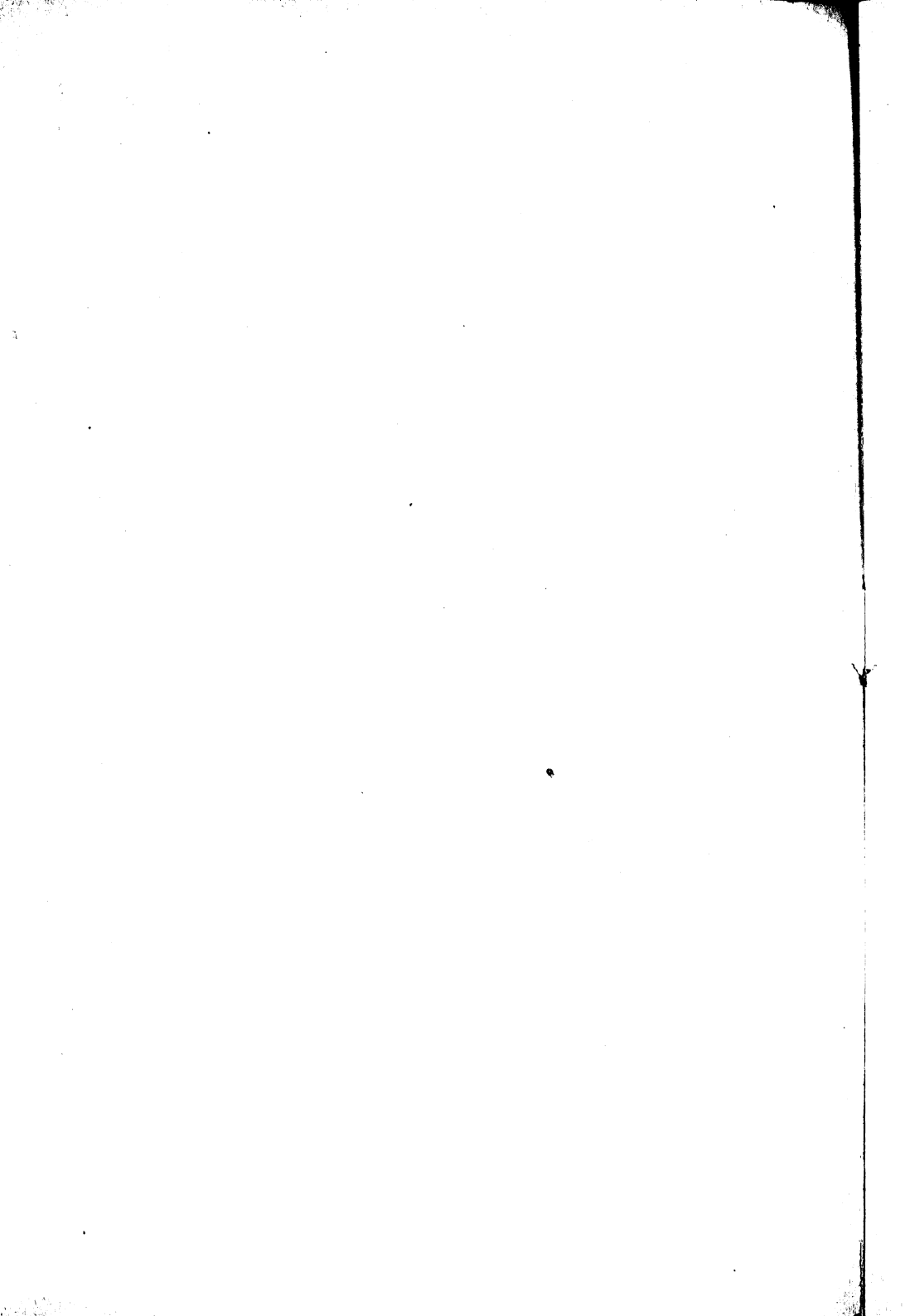


Estratto dal POLICLINICO, Vol. II-C, Fasc. 5

ROMA

SOCIETÀ EDITRICE DANTE ALIGHIERI

1895



Sull'azione patogena dei blastomiceti come contributo alla etiologia dei tumori maligni.

NOTA PRELIMINARE

del prof. FRANCESCO SANFELICE

Nello scorso gennaio ho pubblicato una nota (1) nella quale descrissi una specie di blastomicete patogena. Questa specie, isolata dai succhi in fermentazione di alcuni frutti, non è tanto importante per le lesioni anatomo-patologiche, che produce negli animali da esperimento, quanto per la completa identità morfologica, che le cellule blastomicetiche presentano nei tessuti, con le varie forme descritte dagli autori come appartenenti a coccidi nei tumori maligni dell'uomo. Al fatto molto importante di aver trovato un blastomicete patogeno, mentre prima si riteneva da tutti che in questo gruppo di microrganismi non ve ne fosse alcuno, che potesse esercitare una azione patogena per gli animali, si aggiungeva l'altro non meno importante che questa specie inoculata in coltura pura nelle cavia dava luogo ad una infezione cronica con produzione di tumori nelle glandole linfatiche e negli organi addominali e toracici. Dal lavoro del BUSSE (2), il quale nello esaminare un tumore della tibia di una donna trovò un blastomicete, non risulta chiaramente l'azione patogena di questo, non avendo dato gli esperimenti d'inoculazione negli animali risultati positivi.

Trovata questa specie di blastomicete patogena, ho potuto studiare bene il modo come le cellule blastomicetiche si presentano nei tessuti e scoprire la identità morfologica con quelle forme descritte dagli autori nei tumori maligni dell'uomo e supposte appartenenti ai coccidi. Nè è a meravigliarsi, se gli autori, che si sono occupati specialmente dei parassiti del cancro, abbiano pensato che quelle forme, che essi vedevano, appartenevano piuttosto a coccidi che a blastomiceti. Essi non conoscevano la esistenza di veruna specie patogena di blastomiceti, non sapevano come le cellule blastomicetiche si presentano nei tessuti ed invece sapevano che tra gli sporozoi esistono delle specie patogene, che si presentano come organismi unicellulari, sotto la forma di masse plasmatiche nude, ameboidi, nucleate, capaci di rivestirsi di una membrana flessibile e qualche volta contrattile o di segregare una membrana cistica e di moltiplicarsi per segmentazione totale o parziale della loro massa in un numero variabile di spore nucleate. Ecco la ragione principale per la quale vedendo

(1) SANFELICE. *Ueber eine für Thiere pathogene Sprosspilzart und ueber die morphologische Uebereinstimmung, welche sie bei ihrem Vorkommen in den Geweben mit den vermeintlichen Krebscocciiden zeigt.* Centralblatt f. Bakteriologie, vol. XVII, p. 113, 31 gennaio 1895.

(2) BUSSE. *Ueber parasitäre Zelleneinschlüsse und ihre Zuchtung.* Centralblatt für Bakteriologie, vol. XVI, p. 175, 1894.

spesso nei tumori maligni dell'uomo delle forme rivestite di una membrana a doppio contorno intra- o extra-cellulare, hanno subito pensato che si trattasse di sporo-zoari. Il RUSSELL (1), che vide e descrisse molto accuratamente i parassiti del cancro e parlò di blastomiceti, destò poca fiducia, anche perchè il CAZIN (2) considerava quelle stesse forme come cellule in via di degenerazione ialina ed il KLEIN (3) ritrovava le stesse forme in un cancroide del labbro, in una capsula surrenale tubercolotica e nei gangli tubercolotici dell'uomo e del bue.

Giustamente le vedute del RUSSELL incontravano la critica degli osservatori, perchè egli aveva intuito che si trattasse di forme appartenenti ai blastomiceti, ma non aveva data la dimostrazione sperimentale di questo fatto. La sola morfologia non basta per potere accertare la natura parassitaria di alcune forme incluse nei tessuti patologici e si può dire con certezza che finchè gli osservatori avessero sostenuta la teoria parassitaria dei tumori fondandosi esclusivamente sulla sola base morfologica, avrebbero sempre avuto ragione da una parte i sostenitori, dall'altra gli oppositori di detta teoria. Questa base sperimentale, fondata sull'azione patogena dei blastomiceti e sulla identità morfologica, che nei tessuti presentano coi supposti coccidi del cancro, tentata dal BUSSE, è stata da me iniziata e continuata dopo di me dal MAFFUCCI e dal SIRLEO (4), i quali un mese dopo della comparsa del mio lavoro hanno pubblicata una nota preliminare, nella quale dimostrano: 1° che esiste un blastomicete patogeno con carattere di determinare fatti di neoproduzione d'indole cronica, i cui prodotti cellulari sono capaci di emigrare dal punto della neoformazione alle glandole linfatiche e che il parassita vive fuori e dentro gli elementi cellulari e che emigra isolatamente o con gli elementi della neoproduzione; 2° che esso parassita può distruggere le cellule in cui si annida come può essere da queste alla sua volta distrutto, fino a trovare un prodotto patologico generato dallo stesso, senza la sua presenza.

Quanto ai rapporti, che questo blastomicete trovato dal MAFFUCCI e dal SIRLEO nelle cellule epiteliali del pulmone della cavia può avere con le inclusioni cellulari, che oggi si ritengono come forme parassitarie nelle neoproduzioni epiteliali (carcinoma) gli autori non si credono autorizzati a dire nessuna proposizione in senso negativo o affermativo.

La specie di blastomicete patogena da me trovata fu inoculata in coltura pura fin dai primi dello scorso novembre, oltre che alla cavia, anche a topi di casa, ratti, conigli, cani, gatti, pecore, polli, colombi. Nella prima parte del lavoro completo, che pubblicherò quanto prima, esporrò i risultati ottenuti con le inoculazioni nelle cavia e nella seconda parte del lavoro dirò delle osservazioni fatte negli altri animali, che sono stati inoculati nei diversi organi ed in diverso modo.

In questa seconda nota preventiva credo importante far conoscere i risultati ottenuti dalle ricerche microscopiche di una cagna uccisa dopo circa quattro mesi che

(1) RUSSELL. *An address on a characteristic organism of cancer*. British Medical Journal, 1890.

(2) CAZIN. *Contribution à l'étude des dégénérescences cellulaires*. Journal de l'anatomie, pag. 593, 1890.

(3) KLEIN. *Ueber die Beziehung der Russell'schen Fuchsininkörperchen zu den Altmann'schen Zellgranulis*. Beiträge zu path. Anat., vol. II, p. 125, 1892.

(4) Il Policlinico, 1° marzo 1895, pag. 138.

era stata inoculata in due mammelle e di un gallo, al quale è stato asportato il bargiglio di destra dopo circa altrettanto tempo che vi si era fatta l'inoculazione del blastomicete patogeno in coltura pura.

Per dimostrare che i blastomiceti sono la causa dei tumori maligni dell'uomo, potevano seguirsi due vie: o cercare d'isolare in coltura pura un blastomicete da un tumore maligno dell'uomo ed inocularlo negli animali soggetti a contrarre tumori identici per struttura a quelli dell'uomo, producendo dei tumori; ovvero produrre negli stessi animali, in seguito ad inoculazione di colture pure di blastomiceti, dei tumori per struttura e per decorso analoghi a quelli dell'uomo. Io ho creduto meglio di scegliere questa seconda via perchè molto più dimostrativa. Tutti quelli che hanno ricercato le forme parassitarie nei tumori maligni dell'uomo, sanno quanto sono scarse. Oltre a ciò per poter fare delle colture con probabilità di risultato positivo è necessario sottoporre il tumore estirpato ad un minuto frazionamento per porre in libertà le scarse forme parassitarie. Ora, in qualunque modo si frazioni il tumore, è impossibile escludere il sospetto che le forme di blastomiceti esistenti nell'aria cadano sul tumore e traggano in inganno l'osservatore. Tanto più che il blastomicete patogeno da me trovato nei succhi di alcuni frutti in fermentazione certamente proveniva dall'aria. In questi ultimi mesi da alcuni carcinomi della mammella gentilmente favoriti dal collega prof. BIONDI e da alcuni epitelioni del labbro mandatimi in esame dal dott. DESOGUS, ho ottenuto colture di blastomiceti, che inoculate negli animali si sono dimostrate patogene. Questi risultati positivi non tolgono il dubbio che quei blastomiceti patogeni sieno caduti sui tumori dall'aria e non abbiano a che fare nulla con la vera causa dei tumori stessi. Per queste ragioni ho preferito di inoculare colture pure di blastomiceti negli animali, che vanno soggetti a contrarre tumori per struttura e decorso identici a quelli dell'uomo. Con ciò non va escluso che qualche volta ai chirurghi possa capitare di asportare un tumore maligno, nel quale le forme parassitarie sieno così numerose che possa facilmente riuscire positiva la coltura senza aver bisogno di ricorrere al frazionamento del tumore. Recentemente il RONCALI (1) nella Clinica chirurgica del prof. DURANTE ha avuto la opportunità di studiare un adeno-carcinoma dell'ovaio (papilloma infettante) nel quale con il metodo di colorazione specifico per blastomiceti da me comunicatogli, ha veduto tale quantità di forme parassitarie da far nascere la certezza che se quel tumore si fosse avuto allo stato fresco si sarebbe ottenuta la coltura del parassita.

Le ricerche del RONCALI sono specialmente importanti, perchè dimostrano che qualche volta anche nei tumori maligni dell'uomo si possono trovare moltissime forme parassitarie, le quali paragonate con le forme, che il blastomicete patogeno da me trovato presenta nei tessuti delle cavie e degli altri animali, di cui dirò in appresso, non lasciano nessun dubbio sulla loro vera natura.

Ed ora esporrò i risultati delle osservazioni fatte prima nella cagna e poi nel pollo.

(1) RONCALI. *Sopra particolari parassiti rinvenuti in un adeno-carcinoma (papilloma infettante) della ghiandola ovarica* — Il Policlinico e Annales de Micrographie, 1895.

La cagna, dell'età di circa sei anni, fu inoculata il giorno 10 dello scorso dicembre nel connettivo sottocutaneo in corrispondenza delle due mammelle posteriori, alla distanza di circa 1 cm. dal capezzolo. Come materiale d'innesto si è usata una coltura per strisciamento su agar ricavata dalla decima cavia morta in seguito ad inoculazione nell'addome di una emulsione in brodo dei tumori del grande epiploon della cavia nona. Uso le colture per strisciamento su agar, cui nel momento della inoculazione aggiungo del brodo sterile, nel quale facilmente si emulsionano le cellule blastomicetiche, per impedire la inoculazione dei prodotti solubili, la cui azione mi riserbo di studiare in avvenire. Nei primi giorni dopo la inoculazione si osservano le due mammelle, in corrispondenza delle quali sono state fatte le inoculazioni, abbastanza tumefatte. Nei primi otto o dieci giorni dalla inoculazione si nota un leggero innalzamento della temperatura rettale, che al quindicesimo giorno diventa di nuovo normale. Alla massima tumefazione delle mammelle, raggiunta verso il decimo giorno, succede gradatamente una riduzione di volume, e verso i primi di gennaio il volume delle mammelle è ridotto della metà.

Alla palpazione delle due mammelle verso questo tempo si osservano dei noduli abbastanza consistenti ed abbastanza profondi, facilmente spostabili, senza rapporti con il parenchima della glandola mammaria e con la cute. Nei giorni successivi le due mammelle vanno leggermente aumentando di volume, tanto che il giorno 24 marzo decido di uccidere l'animale e farne la sezione. Pochi giorni prima l'animale era stato osservato dal collega professore BIONDI, il quale, dopo accurato esame del tumore, aveva espressa la opinione che si potesse trattare di un adenoma, ma avendo dopo rilevato con la palpazione le glandole inguinali abbastanza ingrossate, escluse che si trattasse di un adenoma ed ammise piuttosto un tumore di natura maligna.

Alla sezione delle due mammelle inoculate al disotto delle glandole mammarie vi sono noduli della grandezza di una fava, i quali al taglio presentano un tessuto abbastanza resistente, di colorito bianco-grigiastro. Questi noduli sono facilmente isolabili dal connettivo circumambiente ed hanno l'aspetto macroscopico di glandole linfatiche ingrossate. Alla sezione della glandola mammaria, più diffuso nel connettivo, che separa i noduli dalla glandola mammaria che tra i lobi glandolari, si osserva un tessuto bianco-grigiastro non nettamente limitato, con apparenza molto simile a quella del tessuto costituente i noduli sopra descritti. Le glandole linfatiche inguinali sono molto ingrossate. Nella sezione della cavità addominale l'intestino presenta i follicoli linfatici molto ingrossati in modo da fare sporgenza sulla superficie. Sulla superficie dei due reni si vedono dei noduli di colore bianco-grigiastro, di grandezza oscillante fra un acino di canape ed un pisello, alcuni alquanto sporgenti sulla superficie, che nella sezione longitudinale e trasversale del rene si vedono approfondirsi a cuneo nella sostanza corticale. La milza, di volume leggermente aumentato, presenta, sulla superficie del taglio, delle chiazze di colorito bianco-gialliccio. Nulla si osserva nel fegato. Le glandole linfatiche mesenteriali sono ingrossate e si notano non poche glandole linfatiche di varia grandezza nell'adipe del grande omento e dei ligamenti peritoneali. Nessuna lesione si osserva nei polmoni, nel cuore, nel cervello e nel midollo spinale. Il midollo delle ossa lunghe è di colorito rosso pallido.

Nei molti preparati fatti stemperando un po' del tessuto preso dal sito d'inoculazione e dai noduli di riproduzione in glicerina, non ho potuto vedere che scarsissime forme di blastomiceti contenute nello interno delle cellule. Queste forme si differenziano facilmente dai nuclei delle cellule, che le contengono, perchè presentano una membrana a doppio contorno rifrangente ed un contenuto ialino, nel quale per lo più vi è un granulino rifrangente. Per quanti preparati abbia fatti, non mi è riuscito di vedere nessuna forma di blastomicete libera. Mentre dai tessuti delle cavie morte in seguito ad inoculazioni di colture pure dello stesso blastomicete, basta fare un preparato dalle glandole linfatiche o da un organo qualunque per vedere numerosissime cellule blastomicetiche, nei tessuti degli animali, che resistono più tempo che non le cavie, queste cellule sono scarsissime. Inoltre mentre nei tessuti delle cavie predominano le forme parassitarie libere e sono relativamente scarse le forme endocellulari, negli animali, che resistono di più alla inoculazione, sono in maggior numero le forme endocellulari che le libere. I tentativi fatti per ottenere le colture dal sito d'inoculazione hanno dato risultato negativo. Dopo aver fissati ed induriti gli organi della cagna nell'alcool, ho seguito diversi mezzi di colorazione, alcuni dei quali descriverò in esteso avendoli già comunicati ad alcuni colleghi.

Tutti i metodi di colorazione usati finora dagli autori, che si sono occupati dei parassiti del cancro, non sono specifici, perchè nello stesso tempo colorano e parassiti e elementi o parti degli elementi del tessuto. Ora una volta che alcune cellule del tessuto degenerando possono prendere l'aspetto delle cellule blastomicetiche, si comprende facilmente la necessità di avere metodi di colorazione doppia, che permettano di poter distinguere bene le une dalle altre. Nè mi è riuscito tanto difficile trovare questi metodi una volta che avevo dei tessuti come quelli delle cavie nei quali le forme parassitarie erano numerosissime.

Un primo metodo di colorazione, che ho seguito più degli altri, perchè dà colorazioni molto belle, è il seguente: si colorano *in toto* con litio-carminio dei piccoli pezzi di tessuto, che dopo averli trattati con alcool acido ed alcool assoluto successivamente, s'imparaffinano. Le sezioni si attaccano con albumina sui porta-oggetti e dopo averle liberate dalla paraffina con lo xilolo, si trattano con alcool assoluto e con liquido di Ehrlich per cinque-dieci minuti. Tolto il liquido di Ehrlich e lavate-le sezioni con acqua distillata, vi si aggiungono poche gocce di una soluzione di acido ossalico al 0,5 %. L'acido ossalico fissa il colore nelle forme parassitarie di modo che dopo aver tolto l'acido ossalico con l'acqua distillata, lavate le sezioni, sino a che non si sollevano più nuvole di colore, con l'alcool assoluto, tenute per qualche tempo in xilolo e montate in balsamo, le forme parassitarie colorate in violetto spiccano molto bene sul fondo rosso del tessuto.

Un altro metodo di colorazione, che anche dà buoni risultati, è il seguente: si colorano le sezioni, dopo averle attaccate su porta-oggetti con albumina, in un miscuglio a parti uguali di safranina in soluzione acquosa all'1 % e di verde di malachite in soluzione idroalcolica anche all'1 %. Dopo 10 a 20 minuti le sezioni così colorate si lavano con acqua distillata e si pongono nella soluzione di acido ossalico al 0,5 %, nella quale si tengono 2-3 minuti. Si lavano poi in alcool assoluto, finchè non si sollevano più nuvole di colore, si trattano con xilolo e si montano in balsamo.

Con questo secondo metodo, le forme parassitarie si colorano in verde e gli elementi del tessuto in rosso.

Degli altri metodi di colorazione dei blastomiceti nei tessuti, dirò nel lavoro completo.

Ed ora dirò della osservazione microscopica delle varie sezioni

Il tessuto neoformato, nel sito d'inoculazione, può distinguersi in due parti, l'una compresa nel connettivo esistente fra i lobi della glandola e nel connettivo, che circonda la glandola; l'altra, posta profondamente e che si rilevava con la palpazione sotto la forma di noduli.

Nel connettivo, che circonda il tessuto mammario, si osservano degli ammassi di cellule, alcune delle quali presentano nucleo abbastanza grande e corpo cellulare abbastanza esteso; altre sono più piccole con nucleo spinto verso la periferia. Queste cellule in alcuni punti sono strettamente ravvicinate le une alle altre; in altri si mostrano disposte a cordoni, che s'intrecciano in vari sensi da ricordare la struttura dei carcinomi. Intorno a questi elementi neoformati non si vede nessuna reazione infiammatoria.

Dalla periferia di questi ammassi di elementi neoformati si staccano dei cordoni cellulari più o meno estesi, i quali vanno ad infiltrarsi in varia direzione fra i fasci connettivali. Nel centro di questi ammassi di elementi neoformati, per quanto abbia osservato attentamente le sezioni, non mi è stato possibile di rintracciare nessuna forma parassitaria.

Qualche forma parassitaria ho veduto verso la periferia di questi ammassi di elementi neoformati contenuta nel corpo protoplasmatico delle cellule. Le cellule, che contengono queste forme parassitarie, hanno il nucleo spinto verso la periferia ed appartengono a quella varietà di cellule più grandi. Le forme parassitarie incluse sono per lo più forme giovani, che o presentano una sottile membrana a doppio contorno o non ne presentano punto. Le forme giovanissime si colorano in violetto od in verde omogeneamente, mentre le forme adulte presentano un alone colorato in violetto addossato alla membrana ialina ed al centro uno o più granuli colorati intensamente in violetto.

L'altra parte del tumore presenta la struttura di una glandola linfatica con scarsi follicoli verso la periferia e con moltissimi elementi cellulari del medesimo aspetto di quelli innanzi menzionati. Si può dire che quasi tutta questa parte del tumore è fatta dagli elementi neoformati anzi che dal tessuto proprio delle glandole linfathe.

La natura linfatica del tessuto si riconosce solamente dalla esistenza di scarsissimi follicoli. In questa parte del tumore ho riscontrato scarsissime le forme parassitarie endocellulari. La conformazione e la struttura istologica del tumore è la medesima nelle due mammelle. La struttura della glandola mammaria è normale ed i suoi elementi non sembra che prendano parte alla neoformazione. Quantunque una sola osservazione non è certamente sufficiente per poter spiegare la genesi della neoformazione osservata, pure si potrebbe supporre che una prima localizzazione dei parassiti sia avvenuta nei gangli linfatici retromammari e che poi da questi sia avvenuta la diffusione del processo neoplastico nel connettivo, che circonda la glandola.

Lo esame istologico delle altre cagne inoculate nelle mammelle e che ucciderò

dopo un tempo più lungo, spiegherà meglio la genesi della neoformazione e permetterà la esatta diagnosi istologica di questa.

Negli organi, in cui si vedono noduli di riproduzione, la struttura istologica di questi è perfettamente identica a quella descritta nella ghiandola mammaria.

La conclusione, che si può trarre da queste prime osservazioni, si è che con la inoculazione di una coltura pura di blastomiceti nelle mammelle di una cagna si sono prodotte neoformazioni cellulari con disposizione degli elementi tale da ricordare quella, che si osserva nei carcinomi e che in seguito alla neoformazione avvenuta nel sito d'inoculazione si è avuta riproduzione per metastasi nello intestino, nei reni e nella milza.

Ed ora dirò del tumore osservato nel bargiglio di un gallo, inoculato il giorno 10 dello scorso dicembre con una emulsione in brodo del blastomicete patogeno.

La inoculazione si fa nel connettivo sottocutaneo fra le due lamine del bargiglio. Nei primi giorni dopo la inoculazione si osserva una tumefazione della grandezza di una nocciuola, che con la palpazione si presenta di consistenza pastosa. Nei giorni seguenti la tumefazione diminuisce di volume, la consistenza va sempre aumentando, e dopo circa due mesi il bargiglio si presenta molto deformato, in modo da non potersi più distendere specialmente nel bordo inferiore. Toccando il tumore si ha la impressione come se nella spessorezza del bargiglio fra le due lamine cutanee si fosse messo un corpo estraneo molto consistente, che avesse acquistato aderenze col tessuto connettivo e con la cute. Il giorno 10 dello scorso marzo, avendo degli altri galli con tumori in evoluzione, si asporta il bargiglio tutto intero.

Il tumore compreso fra le due lamine del bargiglio si presenta al taglio abbastanza consistente, di colorito bianco rossastro.

Una parte del tumore si fissa in alcool assoluto, un'altra si utilizza per lo esame a fresco.

Molto interessante è lo aspetto che le cellule blastomicetiche in numero abbastanza scarso presentano nei preparati a fresco. Sono in massima parte molto più grandi di quelle osservate nei tessuti delle cavie e della cagna e presentano degli aloni di varia spessorezza e variamente conformati, addossati alla membrana rifrangente a doppio contorno. In alcune è un solo alone ialino, di varia spessorezza, che circonda la membrana rifrangente; in altre questo alone presenta vari cerchi concentrici; alcune volte se ne possono contare fino sei. Allo interno della membrana rifrangente vi è un protoplasma ialino, provvisto di uno o più granuli rifrangenti, centrali o eccentrici. L'aspetto di queste forme è perfettamente identico a quello, che presentano le forme parassitarie trovate dal SOUDAKEWITCH (1) nel cancro. Tutte le forme parassitarie osservate nei preparati a fresco erano libere, ed intorno ad alcune si vedeva un *debris* proveniente dal tessuto.

Le sezioni del tumore sono state colorate con gli stessi metodi innanzi esposti. In queste sezioni si vede che il maggior numero delle cellule blastomicetiche occupa la parte centrale del tumore, il quale si è appunto sviluppato intorno ad esse. La

(1) SOUDAKEWITCH. *Recherches sur le parasitisme intracellulaire et intranucléaire*. Annales de l'Institut Pasteur, vol. VI, p. 145, 1892.

maggior parte di queste forme parassitarie sono degenerate e si presentano come masse ialine incolori; pochissime sono quelle ben colorate.

Tutto il tessuto che forma il tumore è costituito da un tessuto connettivale giovane, in mezzo ai cui fasci vi sono numerosissime cellule con nucleo intensamente colorato e con corpo cellulare nettamente limitato. Queste cellule costituiscono in alcuni punti dei cordoni molto grossi, ed è in mezzo a questi cordoni di elementi neoformati che si vedono raramente delle cellule blastomicetiche.

Le cellule del tessuto in questo caso si dispongono circolarmente intorno all'elemento parassitario. Nei punti in cui il tumore è in contatto con lo strato epiteliale cutaneo, questo si presenta molto ispessito, ed il numero dei vasi sanguigni del connettivo sottoepiteliale è leggermente aumentato. È necessario lo studio di altri tumori in un grado di sviluppo maggiore per poter decidere meglio della loro genesi e struttura istologica. Intanto m'interessa di far notare che il blastomicete da me isolato, oltre ad essere patogeno nei mammiferi, è patogeno anche per gli uccelli, ed inoculato nei polli può dar luogo a neoformazioni con nessuna reazione infiammatoria da parte del tessuto.

Cagliari, 3 aprile 1895.



57268



