

19. RICERCHE DI MICROSCOPIA ELETTRONICA. – II. STUDIO MORFOLOGICO DEL GENERE SPIRONEMA.

Dalla data della sua scoperta, la spirocheta della ricorrente è stata oggetto di un gran numero di ricerche morfologiche, che hanno portato molto spesso a risultati discordanti fra di loro. Filamenti assiali, flagelli, membrane, e altre formazioni sono state descritte, confermate o smentite successivamente, sì che in pratica possiamo dire che dell'intima struttura di queste spirochete sappiamo ben poco di sicuro.

Ciò è facilmente comprensibile, quando si ricordi che lo spessore del parassita comporta appena una frazione di micron, e che le descritte particolarità di struttura si trovano al limite della visibilità microscopica.

Si poteva perciò ritenere a priori che lo studio di queste spirochete col microscopio elettronico, potesse dare risultati interessanti.

Nelle nostre ricerche abbiamo usato due ceppi di spirochete, uno di *Sp. novyi* e uno di *Sp. obermeieri*. I ceppi provenivano da passaggi eseguiti nei topini.

Abbiamo però studiato anche spirochete provenienti da culture in mezzo di Illert. Non si sono riscontrate sensibili differenze morfologiche tra i due ceppi di spirochete. Abbiamo soltanto notato che le spirochete delle specie *obermeieri* hanno uno spessore uniforme, quelle del tipo *novyi* hanno sovente spessori un po' diversi da esemplare ad esemplare.

L'osservazione è stata eseguita su spirochete fissate con formolo o acido osmico e liberate, per quanto possibile, mediante centrifugazioni frazionate, da elementi cellulari e da altre impurità.

Riguardo alla tecnica impiegata ed alla valutazione comparativa dei reperti ottenuti col microscopio ottico e quello elettronico, rimandiamo a quanto abbiamo detto in un lavoro precedente (1).

Anche in questo caso la diversità dei mezzi di fissazione usati non ha sensibilmente influito sulla morfologia dei parassiti.

Prendiamo ora in considerazione i diversi elementi costitutivi della spirocheta ed esponiamo i risultati ottenuti dagli AA. precedenti e da noi, con i due tipi di microscopio.

Aspetto generale. — Non insistiamo in minute descrizioni dell'aspetto di uno spironema, perchè ormai ben noto e non soggetto a controversie (fig. 1, 2). Ricordiamo soltanto che mentre per lo più lo spessore delle spirochete presenti in un preparato è uniforme, capita alle volte di osservare uno spiccato dimorfismo (fig. 3); accanto a spirochete grosse e facilmente colorabili se ne osservano altre molto più sottili e pallide.

Qualche A. [Sterling e Okuniewski (?)] ha creduto di interpretare questa diversità di aspetto nel senso di un dimorfismo sessuale. L'osservazione col microscopio elettronico ci ha permesso di accertare che, mentre le forme più grosse appaiono integre, quelle sottili mostrano evidenti alterazioni e segni di disfacimento.

Esiste invece, e crediamo di averlo rilevato per primi, con l'aiuto del supermicroscopio, un altro evidente dimorfismo.

Nei preparati si notano cioè due tipi di parassiti. Gli uni hanno le due estremità ugualmente affilate (fig. 4), gli altri hanno un'estremità affilata e una arrotondata (fig. 5). La percentuale relativa dei due tipi varia da caso a caso. Talvolta essi si trovano all'incirca nel rapporto di 1:1, altre volte invece il tipo a due estremità affilate è nettamente predominante. Il primo caso si ha quando fra le spirochete le forme in divisione sono piuttosto rare, il secondo quando il ritmo riproduttivo è molto attivo.

Questa osservazione ci induce a spiegare con la seguente ipotesi questo dimorfismo. Si deve ritenere che la forma tipica dello Spironema in riposo sia quella che presenta una estremità acuta ed una arrotondata. Nel processo riproduttivo che abbiamo pure potuto ben seguire al supermicroscopio, la spirocheta presenta un inizio di strozzamento centrale (fig. 6); questo strozzamento si accentua sempre più e si nota un assottigliamento sempre più spiccato (fig. 7, 8, 9) finchè si ha il distacco dei due nuovi elementi.

Di questi l'uno avrà evidentemente un'estremità affilata (la neoformata) e una arrotondata (la preesistente), mentre le estremità dell'altro saranno ambedue affilate. Se il ritmo riproduttivo è molto veloce, alla prima segue una seconda divisione, senza che la spirocheta abbia il tempo di passare per lo stadio di riposo con una estremità arrotondata e allora

il numero dei parassiti con ambedue le estremità affilate, supera di molto quello degli altri.

Protoplasma. — E' noto che nei preparati colorati col Giemsa gli spironemi mostrano abbastanza spesso granuli più intensamente colorati, talvolta d'aspetto cromatinico o volutinico e altre brevi aree o vacuoli trasparenti o quasi. Anche noi confermiamo tali reperti (fig. 1). Un vero nucleo non è stato finora descritto negli Spironema, però Zuelzer (2) vi ha individuato l'acido nucleinico.

Col microscopio elettronico il protoplasma dello spironema appare per lo più uniformemente omogeneo (fig. 10). Non vi si vedono mai formazioni riferibili a nuclei o elementi nucleoidi. In qualche caso si mettono invece in evidenza zone trasparenti, alle volte molto piccole (fig. 11) altre volte discretamente estese (fig. 12).

Assistile. — Zuelzer (2) ammette che negli spironemi provenienti da cultura sia ben visibile un asse centrale elastico, attorno al quale si avvolge il protoplasma. Noguchi (4) anzi considera la probabile presenza dell'assistile come una delle caratteristiche tipiche del genere Spironema.

Non possiamo confermare tali reperti. Nelle spirochete da noi osservate, tanto in quelle provenienti dal sangue del topino, come in quelle coltivate in terreno di Illert, non si sono mai osservate formazioni attribuibili ad un assistile.

Membrana di rivestimento. — L'esistenza di tale membrana è molto discussa. C'è chi la nega [Ehrenberg (5)], chi ne ammette l'esistenza esclusivamente in senso fisiologico [Zuelzer (2)], altri come una differenziazione del periplasto [Prowazek (6), Hoffmann (7), Mühlens (8), Hartmann (9), Gonder (10), Fantham (11), ecc.]; altri come una struttura ben definita [Migula (12), Afanassiew (13)]; qualcuno infine [Schellack (14)] lascia insoluto il problema.

Col microscopio elettronico non abbiamo mai osservato una membrana di rivestimento, neppure nelle forme in procinto di dividersi, là dove, dato il forte stiramento, una membrana non sarebbe sfuggita all'osservazione.

Non si può escludere che esista un addensamento periferico di protoplasma, fors'anche particolarmente differenziato, che tenga luogo della membrana di rivestimento e che serva di supporto a quella ondulante.

Membrana ondulante. — L'esistenza o meno di una membrana ondulante nelle spirochete della ricorrente, è stato uno degli argomenti più discussi. Già Schaudinn (¹²) aveva osservato scorrere lungo il corpo di spirochete in riposo, un movimento ondulatorio, che egli attribuì alla presenza di una membrana ondulante. Altri AA. [Prowazek (¹⁶⁻¹⁷) e Gonder (¹⁸)] ritennero pure di averla vista, ma le loro osservazioni non trovarono in seguito conferma [Gross (¹⁹), Schellack (¹⁴), ecc.], tanto che Sobernheim e Loewenthal concludono il loro capitolo sulle spirochete (²⁰) con l'affermazione che l'esistenza di una vera e propria membrana ondulante non è stata finora dimostrata con certezza in nessun gruppo di spirochete.

Col microscopio ottico non è infatti possibile, nè in vivo, nè su preparati colorati, riconoscere nelle spirochete una membrana ondulante. Questa risulta invece con la più grande evidenza nelle spirochete osservate al supermicroscopio (fig. 6).

La membrana ondulante inizia poco sotto l'estremità e accompagna in tutta la sua lunghezza il corpo della spirocheta. In essa, se integra, non si riconosce alcuna particolare struttura fibrillare; questa risulta invece evidente, come diremo in seguito, se la membrana si macera.

Lo spessore della membrana sembra essere uniforme in tutto il suo decorso e si aggira tra 0,05 e 0,1 μ ; corrispondente cioè a circa $\frac{1}{3}$ dello spessore del corpo spirochetico. In corrispondenza del margine libero della membrana, non si scorge nessun ispessimento o filamento. Nelle forme in divisione, in corrispondenza allo strozzamento, non si scorge la membrana ondulante.

Flagelli e pseudoflagelli. — Anche su questo punto i contrasti non sono mancati. Riassumiamo brevemente quanto hanno affermato gli AA. che ci hanno preceduto.

Alcuni negano assolutamente la presenza di flagelli [Dobell (²¹), Mesnil (²²)]. Altri, pur non ammettendo l'esistenza di questi, descrivono nello *Spironema* filamenti terminali [Noguchi (4)], che secondo qualcuno [Schellack (14)] si ridurrebbero con l'invecchiamento. Questi filamenti dovrebbero essere rappresentati dall'estremità molto stirata e assottigliata di spirochete suddivisesi di recente [Krzyształowicz e Siedlecki (²³), Hoffmann (²), e v. Prowazek (¹⁷), Mühlens (⁶) e Hartmann (⁹)].

Altri AA. ammettono l'esistenza di veri flagelli. Così Novy e Knapp (²⁴) ne vedono di ondulati, di tipo batterico, Morosow (²⁵) ne vede da 1 a 4 ad una estremità. Bhandarkov e coll. (²⁶) trovano a ciascuna delle due estremità 1-2 lunghi flagelli. Infine, usando l'impregnazione argentica, Borrel (²⁷), Zettnow (²⁸) e Fraenkel (²⁹), descrivono numerosi flagelli a disposizione peritrica. Questa interpretazione non è però accettata da Hoffmann e v. Prowazek (³⁰), Mühlens e Hartmann (³¹), Mayer (³²), Schellack (³³) ecc.

Questi AA. li considerano come artefatti e li riproducono con una certa facilità sottoponendo le spirochete a macerazione. Essi deriverebbero dallo sfibrillamento del periplasto. Però Sobernheim e Loewenthal (³⁴) ritengono che non sia facile considerare in ogni caso come artefatti i flagelli visibili nelle figure di Zettnow (²⁸) e Fraenkel (²⁹). La loro interpretazione offrirebbe ancora difficoltà.

Nell'osservazione di spirochete colorate, col microscopio ottico, non abbiamo mai visto formazioni interpretabili come flagelli. Tutt'al più alcune spirochete avevano un'estremità molto sottile ed affilata, che poteva simulare un pseudoflagello, come quelli descritti da Noguchi e da Schellack. In preparati di spirochete alterate provenienti da un topino in agonia e colorate col metodo di Lancereux per i flagelli, abbiamo visto filamenti laterali ondulati, in numero vario, simili a quelli raffigurati da Zettnow (fig. 13-14).

La loro esatta interpretazione doveva essere data appena dall'uso del microscopio elettronico.

Con questo mezzo di osservazione abbiamo potuto vedere i seguenti tipi di formazioni filamentose:

1) Flagelli terminali: Mentre le spirochete ad estremità appuntite non presentano mai flagelli terminali, una notevole percentuale di quelle ad estremità disuguali presentano all'estremo arrotondato un ciuffo di flagelli (fig. 15, 16, 17). Questi, in numero variabile da 3-4 a una decina, partono per lo più da un punto situato ad una frazione di micron dall'estremità, quindi piuttosto che terminali, sono in realtà da considerarsi subterminali. Essi sono molto sottili, di spessore uniforme e di lunghezza molto diversa. I più lunghi raggiungono e superano i 5 μ . di lunghezza ed hanno un decorso ampiamente sinuoso (fig. 18).

2) Filamento subterminale. In alcune spirochete, invece del ciuffo di flagelli, parte dall'estremità ottusa un filamento di circa $0,05\mu$ di diametro. Anche questo non parte proprio dall'estremità, ma da un punto vicino a questa (fig. 19, 20, 21). Il suo andamento e la sua lunghezza ricordano molto quanto abbiamo osservato a proposito dei flagelli. L'interpretazione di questo reperto è piuttosto difficile. Date le sue caratteristiche e la sua frequenza, è difficile considerarlo un semplice artefatto o una impurità aderente alla spirocheta. Si può supporre che esso sia l'equivalente dei flagelli, nel senso che possa, normalmente o eccezionalmente, sfrangiarsi in un ciuffo di filamenti sottili, oppure che questi ultimi possano eventualmente agglutinare e dare un unico filamento più grosso.

E' naturalmente molto difficile dire se la forma tipica sia rappresentata in vivo dal filamento unico o dal ciuffo di flagelli.

3) In alcune rare spirochete abbiamo osservato, lungo il decorso del corpo, l'esistenza di sottili ciglia e di ciuffetti di queste, di solito di breve lunghezza (fig. 5), che sembrano corrispondere a quanto avevano osservato Zettnow e noi pure nei preparati impregnati con i sali d'argento (fig. 13-14). L'interpretazione di questo reperto offriva serie difficoltà, finchè il problema è stato risolto da un reperto occasionale.

Avevamo notato che in un caso le spirochete ottenute da un topo in agonia, fissate con formolo e lavate ripetutamente, presentavano segni di degenerazione (dimorfismo, diversa affinità tintoriale). Non possiamo dire se tale degenerazione sia intervenuta già nelle spirochete in vivo, nell'organismo del topo, oppure più tardi nel corso delle manipolazioni subite nella preparazione.

All'osservazione supermicroscopica tali spirochete appaiono alterate, sottili, con il protoplasma che tende a frammentarsi. Inoltre esse presentano un gran numero di sottili filamenti, a decorso più o meno parallelo, che alle volte accompagnano sinuosamente il corpo in modo analogo alla membrana ondulante (fig. 22, 23, 24, 25, 26), alle volte si staccano da questo (fig. 27, 28).

Come si vede chiaramente nelle figure, tali filamenti sono dovuti allo sfibrillamento della membrana ondulante, e sono quindi da considerarsi artefatti.

Si potrebbe ritenere che essi provenissero anche da una eventuale membrana avvolgente o da un periplasto. Questa ipotesi è però poco atten-

dibile. A parte il fatto che l'esistenza di una simile membrana non è stata da noi mai rilevata, il decorso sinuoso di questi filamenti, il fatto che in ogni tratto essi si trovano anche se staccati, soltanto ad uno dei due margini della spirocheta, fa ritenere che essi provengano esclusivamente dalla membrana ondulante.

Poichè è noto che la centrifugazione può danneggiare ed asportare le ciglia degli schizomiceti, ci siamo preoccupati di controllare se ciò non accadesse anche per la spirochete. Abbiamo perciò studiato anche spirochete purificate semplicemente mediante diluizione del mezzo liquido e sedimentazione. I risultati così ottenuti non hanno fatto altro che confermare quanto avevamo già visto nei preparati purificati mediante centrifugazione.

Spore e forme a riposo. — Qualcuno ha voluto vedere nelle spirochete della ricorrente la formazione di spore e la comparsa di particolari forme di resistenza [Balfour (³³), Blanc (³⁴), Fantham (¹¹), Hindle (³⁵) e Leishman (³⁶)]. Dobbiamo rilevare che non abbiamo mai visto nulla di simile.

Suddivisione. — E' ormai pressochè generalmente ammesso che gli Spironema si dividono soltanto trasversalmente e noi non possiamo che confermare tale affermazione. Le figg. 6, 7, 8, 9 rappresentano forme in divisione. La modalità con cui questa avviene è stata da noi già descritta.

Concludendo, le nostre ricerche conducono a caratterizzare il genere Spironema come segue: Spirochete provviste di spire ampie e irregolari; più strette e regolari in cultura. Manca un filamento assiale. Non c'è camerazione. Manca una membrana avvolgente. Esiste una membrana ondulante. Esiste, nelle forme con una estremità arrotondata, un ciuffo di flagelli o un filamento subterminale omologo a questi. Suddivisione trasversale. Dissoluzione nei sali biliari. Immobilizzazione e lenta distruzione ad opera della Saponina.

Come si vede queste caratteristiche sono notevolmente diverse da quelle finora ritenute come tipiche del genere. Ricordiamo infine che nei più recenti trattati prevale di nuovo la tendenza di togliere le spirochete dal gruppo dei Protozoi, e di avvicinarle a quello degli Schizomiceti. I nostri reperti, e specialmente quelli della presenza di flagelli e di una membrana ondulante contraddicono nettamente tale attribuzione e accostano

singularmente il genere *Spironema* al gruppo dei *Tripanosomi*, come già Schaudinn 50 anni fa aveva intravisto.

La principale differenza fra i due gruppi consiste però ancor sempre nel fatto che mentre gli *Spironema* si dividono trasversalmente, i *Tripanosomi* si dividono longitudinalmente.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno studiato col microscopio ottico e con quello elettronico la morfologia delle spirochete della ricorrente. Essi descrivono due tipi di spirochete: uno con due estremità affilate e uno con un'estremità affilata ed una rotondeggiante.

Le spirochete sono provviste di una membrana ondulante e, all'estremità arrotondata, di un ciuffo di flagelli terminali o di un filamento subterminale. Mancano: una membrana avvolgente, formazioni nucleo-o sporosimili, filamenti assiali. La membrana ondulante può in particolari circostanze sfibrillarsi e simulare l'esistenza di una flagellazione peritrica.

SUMMARIUM

Microscopiis cum optico tum electronico usi, Auctores morphologiam exploravere spirochaetarum recurrentis febris.

Iidem duo spirochaetarum describunt genera, alterum utrimque acuminatum, alterum ex una parte acutum, teres ex altera.

Spirochaetas autem instructae sunt membrana quadam undulanti, et, qua parte teretes sunt, flagellorum cirro terminali et capillamento subterminali.

Illa vero desunt: membrana aliqua involvens, et formata nucleorum vel sporarum similia, et capillamenta ascialia.

Membrana illa undulans nonnunquam accedit ut in fibrilla scindatur, adoflagellationem simuletur peritrichon.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BABUDIERI B. e BOCCIARELLI D., « Ricerche di microscopia elettronica. - I. Studio morfologico di *Rickettsia prowazeki* », questi Rendiconti (1943).
- (²) STERLING e OKUNIEWSKI S., « Beitrag zur Bakteriologie der *Recurrentispirochaete* », Zbl. f. Bakt. Orig. 82, 456 (1919).
- (³) ZUELZER M., « Die Spirochaeten. In. v. Prowazek-Nöller, Handbuch der pathog. Protozoen », 3, 1627 (1931).
- (⁴) NOGUCHI H., « Morphological characteristics and nomenclature of *Leptospira (Spirochaeta) icterohaemorrhagiae (Inda and Ido)* » Journ. of Exp. Med., 27, 575 (1918).
- (⁵) EHRENBERG, « Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen », Leipzig (1838).
- (⁶) V. PROWAZEK S., « Einfluss hämolitischer Stoffe auf Spirochäten », Zbl. f. Bakter. Orig., 66, 424 (1912).
- (⁷) HOFFMANN E., « Zur Stellung der Spirochaeten in System », Zbl. f. Bakter. Orig., 66, 520 (1912).
- (⁸) MÜHLENS P., « Vergleichende Spirochätenstudien », Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 57, 405 (1907).
- (⁹) HARTMANN M., « Das System der Protozoen », Arch. f. Protistenk., 10, 139 (1907).
- (¹⁰) GONDER R., « *Spirochaeta (Spirochäten)* », in v. Prowazek-Nöller, Handbuch der pathog. Protozoen », 2, 671 (1920).
- (¹¹) FANTHAM H. B., « The Spirochaetes: a review of some border-line organisms between animals and plants » Science progress, 3, 148 (1908).
- (¹²) MITGULA W., « System der Bakterien. Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bakterien. Bd. 1, Allgemeiner Teil », Jena, Fischer, (1897).
- (¹³) AFANASSIEW, citato da SOBERNHEIM e LOEWENTHAL in: « Kolle-Wassermann-Uhlenhuth: Handbuch der Pathog. Mikroorganismen », 7, (1930).
- (¹⁴) SCHELLACK C., « Morphologische Beiträge zur Kenntnis der europäischen, amerikanischen und afrikanischen *Recurrentispirochäten* », Arb. Kais. Ges. A., 27, 364 (1908).
- (¹⁵) SCHAUDINN E., « Zur Kenntnis der *Spirochaeta pallida* und anderer Spirochaeten », Arb. Kais. Ges. A., 20, 387 (1904).
- (¹⁶) V. PROWAZEK S. e KEYSSELTZ G., « Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Studien über Hühnerspirochaeten », Arb. Kais. Ges. A., 23, 554 (1906).
- (¹⁷) V. PROWAZEK S., « Vergleichende Spirochätenuntersuchungen », Arb. Kais. Ges. A., 26, 23 (1907).
- (¹⁸) GONDER R., « Spirochätenstudien », Zool. Jahrbücher, Suppl. XV, 1, (1912).

- (¹⁷) GROSS I., « Ueber Systematik, Struktur und Fortpflanzung der Spirochaeta », Zbl. f. Bakt. Orig., 65, 83 (1912).
- (¹⁸) SOBERNHEIM G. e LOEWENTHAL W., « Allgemeines über Spirochäten », in KOLLE, WASSERMANN, e UHLENHUTH: « Handbuch der pathogenen Mikroorganismen », 7, 1 (1930).
- (¹⁹) DOBELL C. C., « Researches on the spirochaets and related organisms », A. f. Prot., 26, 117 (1912).
- (²⁰) MESNIL F., « Sur la nature des spirochètes », La Médecine, N. 12 (1912).
- (²¹) KRZYŻTALOWICZ e SIEDLECKI, « Etude expérimentale de la syphilis; morphologie de Spirochaeta pallida », Bull. Acad. Sc. de Cracovie, 173 (1908).
- (²²) NOVY G. e KNAPP R. E., « Studies in Spirillum Obermeieri and related organisms », Journ. of. inf. Dis., 3, 291 (1906).
- (²³) MOROSOW, « Zur Frage der Morphologie und Biologie der Spirochaeta Obermeieri », Russ. j. of. trop. med., 25 (1924).
- (²⁴) BHANDARKOR P. R., BAI P., e BHAGWAT S. V., « Demonstration of flagella of Spirochaeta carteri », Ind. med. Gaz., 327 (1912).
- (²⁵) BORREL A., « Spirilles, spirochètes, trypanosomes », Bull. Soc. Path. exot., 1, 151 (1908).
- (²⁶) ZETTNOW E., « Geissel bei Hühner- und Rekurrensspirochaeten », D. med. Wochenschr. (1906).
- (²⁷) FRAENKEL L., « Zur Biologie der Recurrensfäden », Virch. A., 209, 97 (1912).
- (²⁸) HOFFMANN E. e V. PROWAZEK S., « Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochaeten », Zbl. f. Bakt. Orig., 41, 741 (1906).
- (²⁹) MAYER M., « Beiträge zur Morphologie der Spirochäten », Beihefte z. Arch. f. Schiffsh. u. Tropenhyg., 12, 735 (1908).
- (³⁰) BALFOUR A., « Resistant forms of Treponema pallidum granule shedding », J. of. R. Army med. Corps., 16, 695 (1911).
- (³¹) BLANC G. R., « Les spirochètes; contribution à l'étude de leur évolution chez les ixodidae », Faculté de méd. Paris (1911).
- (³²) HINDLE E., « On the life-cycle of Spirochaeta gallinarum », Ann. of. Trop. Med. and Parasit., 4, 4 (1911).
- (³³) LEISHMAN W. B., « Observations on the mechanism of infection in tick-fever and on the hereditary transmission of Spirochaeta duttoni in the tick », Transact. of. the Soc. of. Trop. Med., 3, 77 (1910).

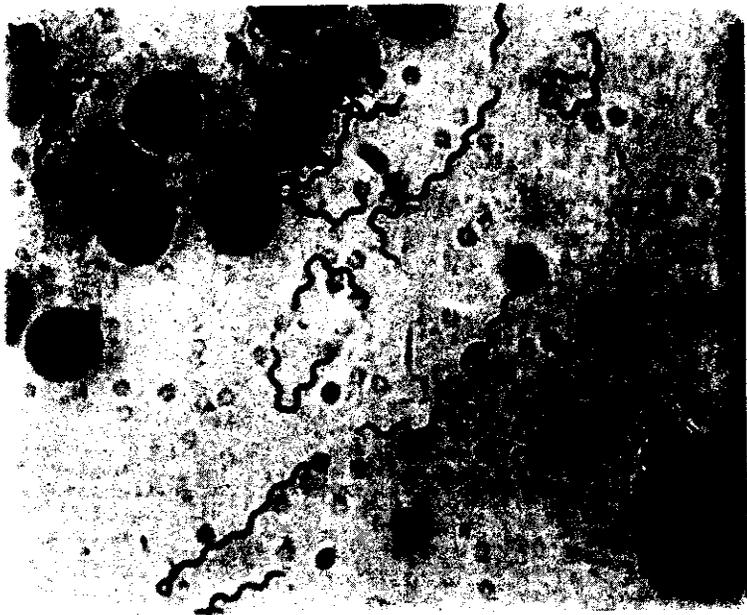


Fig. 1. - *Spironema obermeieri* nel sangue di topino.
Coloraz. Giemsa; 1800 \times .

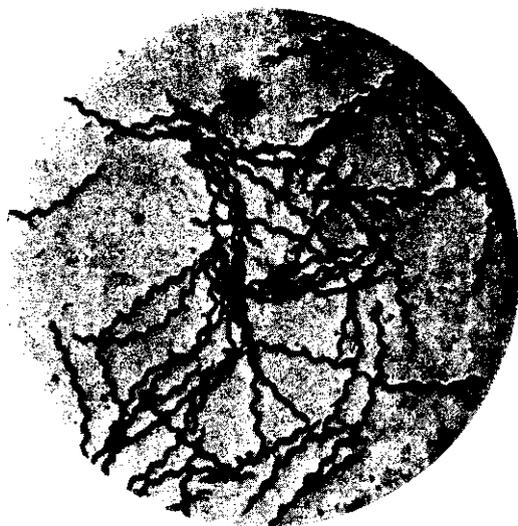
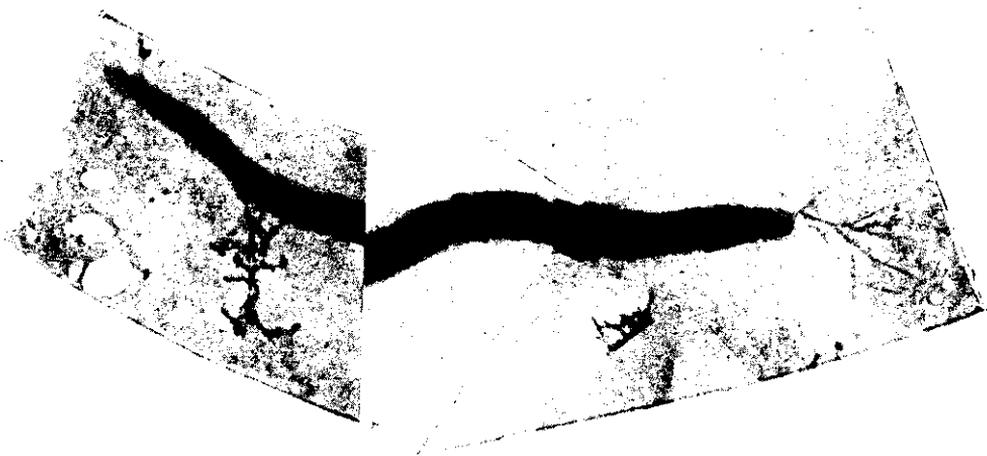


Fig. 2. - *Spironema obermeieri*, dal topino. Fissazione ac. osmico, coloraz. genziana fenicata; 1800 ×.



Fig. 3. - *Spironema novyi*, dal topino. Dimorfismo. Fissaz. formolo, coloraz. genziana fenicata; 1800 ×.







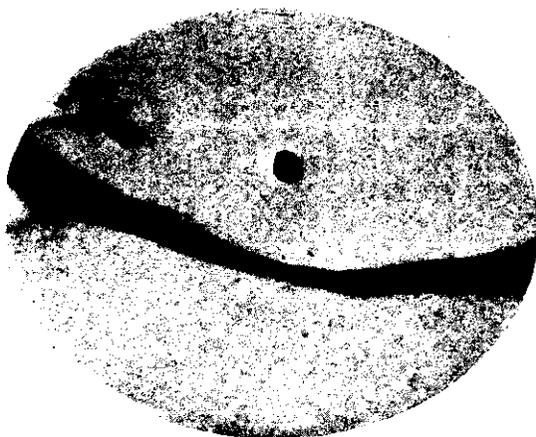


Fig. 7. - *Spironema obermeieri*, dal topino. Forma in divisione. Fissaz. ac. osmico; 19.000 \times .

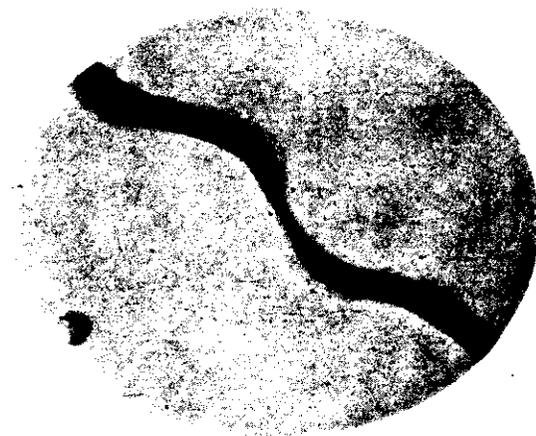


Fig. 8. - *Spironema novyi*, dal topino. Forma in divisione. Fissaz. formolo; 17.500 \times .

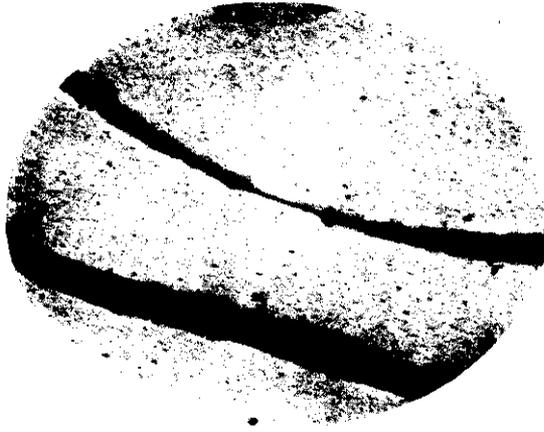


Fig. 9. - *Spironema novyi*, dal topino. Forma in divisione. Fissaz. formolo; 19.000 X.



Fig. 10. - *Spironema novyi*, dal topino. Estremità affilata. Fissaz. ac. osmico; 19.000 X.



Fig. 11. - *Spiromema novyi*, dal topino. Gruppo di spirochete con vacuoli protoplasmatici. Fissazione ac. osmico; 19.000 X.



Fig. 12. - *Spiromema obermeieri*, dal topino. Vacuoli protoplasmatici. Fissaz. ac. osmico; 19.000 X.

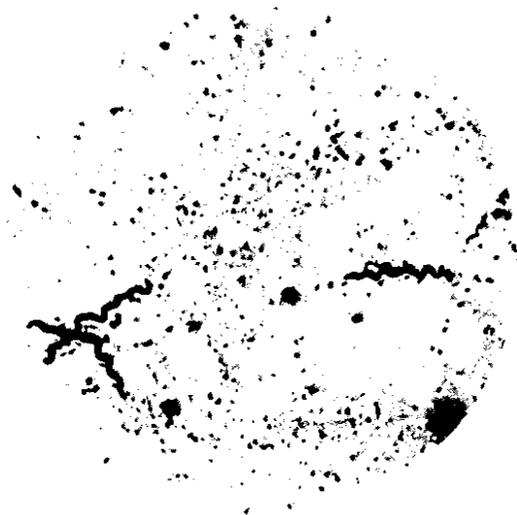


Fig. 13. - *Spironema novyi*, dal topino. Pseudoflagelli.
Colorazione di Lancereux per le ciglia; 1800 \times .

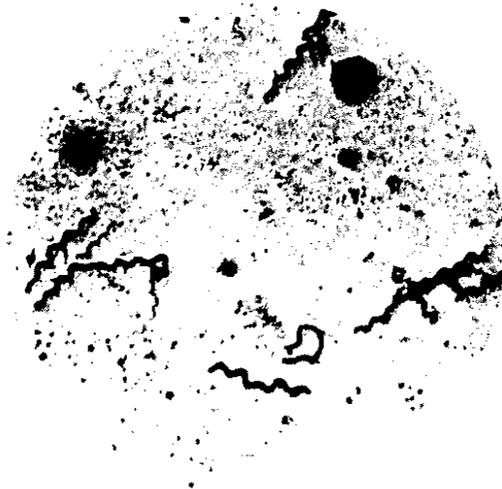


Fig. 14. - *Spironema novyi*, dal topino. Pseudoflagelli.
Colorazione Lancereux per le ciglia; 1800 \times .



Fig. 15. - *Spiromema obermeieri*, dal topino. Flagelli.
Fissaz. ac. osmico; 19.000 ×.



Fig. 16. - *Spiromema obermeieri*, dal topino. Flagelli.
Fissaz. ac. osmico; 1800 ×.



Fig. 17. - *Spiromema obermeieri*, dal topino. Flagelli.
Fissaz. ac. osmico; 19.000 X.

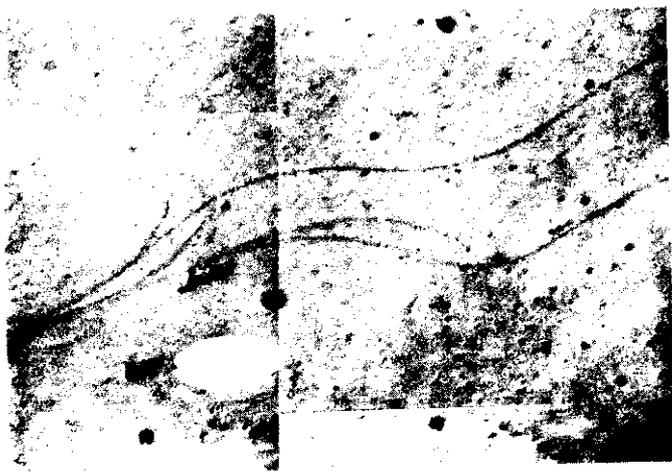


Fig. 18. - *Spiromema obermeieri*, dal topino. Flagelli.
Fissaz. ac. osmico; 19.000 X.

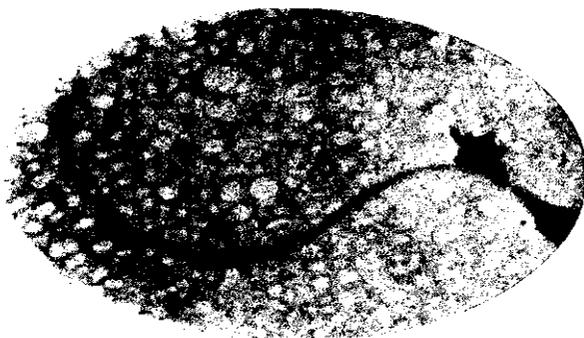


Fig. 19. - *Spironema obermeieri*, dal topino. Filamento subterminale. Fissaz. ac. osmico; 19.000 \times .

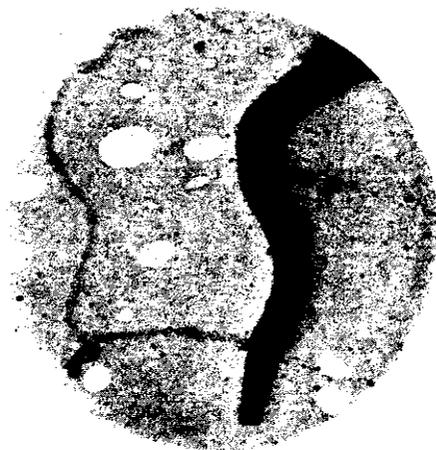


Fig. 20. - *Spironema novyi*, dal topino. Filamento subterminale. Fissaz. formolo; 19.000 \times .

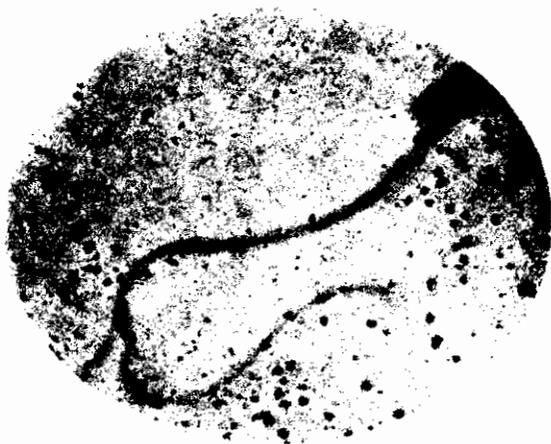


Fig. 21. - *Spironema obermeieri*, dal topino. Filamento subterminale. Fissaz. formolo; 19.000 .



Fig. 22. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 18.000 .



Fig. 23. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 18.500 \times .

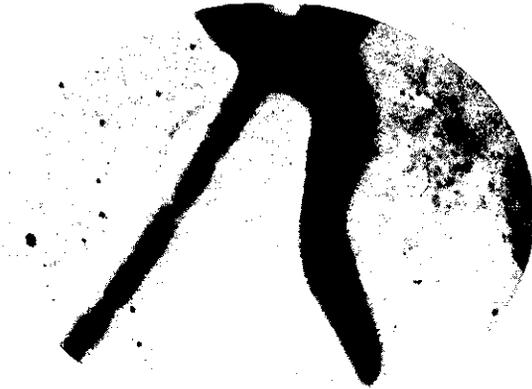


Fig. 24. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 19.000 \times .



Fig. 25. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 19.000 X.



Fig. 26. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 19.000 X.

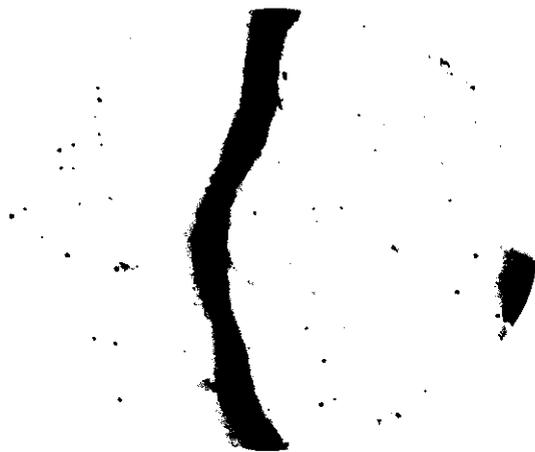


Fig. 27. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 19.000 X.

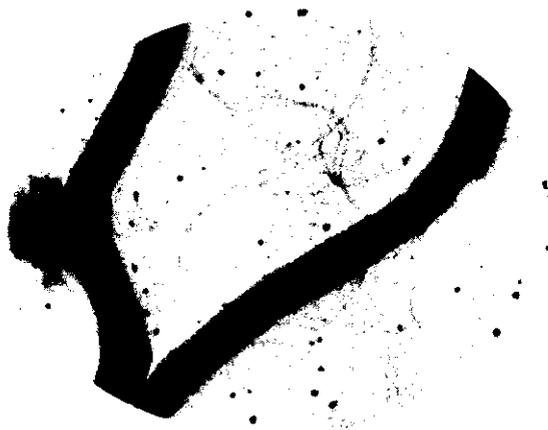


Fig. 28. - *Spironema novyi*, dal topino. Sfibrillamento della membrana ondulante. Fissaz. formolo; 19.000 X.