

18. Mazzini PERGOLA. — Contributo alla classificazione del *Micrococcus (Coccobacillus) Mycetoides*, Castellani 1942.

Riassunto. — L'A. dimostra che il *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides*, Castellani 1942, agente specifico della « *Ulcera tropicale superficiale o Ulcera tropicaloide o Ulcera micetoide del deserto* »:

- a) ha forma bacillare;
- b) presenta rigonfiamenti terminali a clava nella maggior parte dei suoi elementi;
- c) si trova disposto a V, a L, a palizzata, a zooglee;
- d) è provvisto di granulazioni polari metacromatiche;
- e) assume colorazione discontinua.

Poichè queste sono le caratteristiche essenziali dei Corinebatteri, l'A. ritiene che appunto al genere *Corynebacterium* sia da ascrivere il cosiddetto *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides*, Castellani 1942.

Résumé. — L'auteur démontre que le *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides*, Castellani 1942, agent spécifique de « *l'Ulçère tropicale superficielle ou Ulçère tropicaloide ou Ulçère mycétoide du désert* »:

- a) a forme bacillaire;
- b) présente des regonflements terminaux en forme de massue dans la plupart de ses éléments;
- c) peut être disposé en V, en L, en palissade, en zooglée;
- d) est pourvu de granulations polaires métachromatiques;
- e) prend une couleur discontinue.

Étant donné que ce sont là les caractères essentiels des Corynebactéries, l'auteur est d'avis qu'il faut en effet rattacher l'ainsi nommé *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides*, Castellani 1942, au genre *Corynebacterium*.

Summary. — The Author demonstrates that *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides*, Castellani 1942, the specific agent of « *Tropical Superficial Ulcer* » or « *Tropicaloid Ulcer* » or « *Mycetoid Ulcer of the Desert* »,

- a) is bacilliform;
- b) presents terminal club-like swellings in most of its elements;

- c) is found arranged V-wise, L-wise, fence-wise or as zooglae;
- d) is equipped with metachromatic polar granulations;
- e) displays discontinuous coloration.

As the above are the essential features of *Corynebacteria*, the Author deems that the so-called *Micrococcus* (*Coccobacillus*) *mycetoides*, Castellani 1942, is to be ascribed to the genus of *Corynebacterium*.

Zusammenfassung. — Der Autor zeigt, dass *Micrococcus* (*Coccobacillus*) *mycetoides*, Castellani 1942, der spezifische Erreger das « Oberflächlichen Tropenulcers » oder « Tropicaloidulcer » oder « Mycetoidulcer der Wüste », folgende Eigenschaften hat:

- a) Bazillenförmig;
- b) weist Endschwellungen in den meisten seiner Elemente auf;
- c) tritt in einer V-Form, L-Form, zaunförmig oder als zooglae auf;
- d) ist mit metachromatischen, polaren Granulationen ausgestattet;
- e) weist eine unregelmässige Färbung auf.

Da obige Merkmale ausschliesslich Eigenschaften der Corynebakterien sind, glaubt der Autor, dass der sogenannte *Micrococcus* (*Coccobacillus*) *mycetoides* (Castellani 1942) dem genus des *Corynebacterium* angehört.

Col nome di *Micrococcus* (*Coccobacillus*) *mycetoides*, CASTELLANI⁽¹⁾ ha indicato un microrganismo da lui isolato e riconosciuto quale agente etiologico di una particolare forma di « *ulcera della gamba* », ulcera contagiosa, di cui nel 1941-42 egli ebbe ad osservare molti casi fra le truppe operanti nell'Africa del Nord e specialmente nelle regioni desertiche.

Per distinguere questa affezione ulcerosa da altre analoghe, ma ad etiologia diversa, CASTELLANI l'ha denominata « *Ulcera tropicale superficiale o Ulcera tropicaloide o Ulcera micetoide del deserto* ».

Il *Micrococcus mycetoides*, a quanto viene riferito da CASTELLANI e

(¹) CASTELLANI A.: *Annali d'Igiene*, 52, 549, 1942.

dai suoi Collaboratori SERVINO e TARIZZO (¹, ², ³, ⁴, ⁵), risulta dotato di un notevole polimorfismo. Detti AA., infatti, lo riscontrano sotto forma di cocco, o di coccobacillo ad elementi isolati o riuniti a gruppetti stafilococoidi, o di streptococco a catenelle più o meno lunghe, nonchè sotto forma nettamente bacillare con qualche elemento notevolmente allungato. Inoltre all'interno degli elementi batterici più lunghi, i sopra nominati AA. riscontrano talvolta formazioni granulari, che nei preparati colorati assumono più intensamente il colore. Tali granulazioni — in generale più di una per ogni elemento batterico — sono terminali o sub-terminali e non debordanti.

La classificazione del *Micrococcus mycetoides* — dati i suoi caratteri proteiformi — è dichiarata difficile da CASTELLANI e Collaboratori, i quali perciò concludono che momentaneamente è consigliabile attenersi alla denominazione di *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides* data da Castellani stesso, quando descrisse il germe per la prima volta. « Un maggior lavoro di ricerca dovrà essere condotto prima di poter raggiungere una definita classificazione », disse CASTELLANI (⁴) ancora nel 1949. Ma dalle pubblicazioni in proposito venute a mia conoscenza — quelle citate nella Bibliografia — non risulta che il problema in questione abbia fatto qualche progresso, essendosi invece tuttora mantenuta la primitiva denominazione data da Castellani. Si può quindi concludere che la classificazione definitiva del *Micrococcus mycetoides* rimane ancora in sospenso.

Un contributo allo studio del *Micrococcus mycetoides* è stato portato nel 1943 dal NEGRO (⁶), che tra l'altro si occupa pure della classificazione del microrganismo e poichè conclude per la sua natura streptococcica, ritiene preferibile alla denominazione di *Micrococcus mycetoides* quella più precisa di *Streptococcus mycetoides*.

Leggendo la nota di CASTELLANI, SERVINO e TARIZZO del 1949, dal titolo: « Ulteriori ricerche sul *Micrococcus (Coccobacillus) mycetoides*, Castellani 1942, con speciale riguardo alle sue variazioni morfologiche, tintoriali e colturali » (³) richiamò in modo particolare la mia attenzione

(²) CASTELLANI A.: *Le malattie dell'Africa - Manuale pratico* - Roma, 1947.

(³) CASTELLANI A., SERVINO V., TARIZZO M.: *Rivista dell'Istituto Sieroterapico Italiano, Sezione prima*, 24, 4, 1949.

(⁴) CASTELLANI A.: *Atti del I Congresso della Società per lo studio delle Malattie Infettive e Parassitarie. Acta Medica Italica di Malattie Infettive e Parassitarie*, 5, 363, 1950.

(⁵) SERVINO V., TARIZZO M.: *Atti del I Congresso della Società per lo studio delle Malattie Infettive e Parassitarie. Acta Medica Italica di Malattie Infettive e Parassitarie*, 5, 384, 1950.

(⁶) NEGRO G.: *Giornale di Batteriologia e Immanologia*, 30, 703, 1943.

la Fig. 3, che riporto nella presente nota come Fig. 1. Essa ci permette infatti varie e interessanti osservazioni, e cioè:

a) gli elementi batterici raffigurati presentano quasi tutti forma nettamente bacillare e sono di lunghezza variabile, che raggiunge anche circa 6μ come nei due elementi che si vedono nella zooglea sita all'estre-

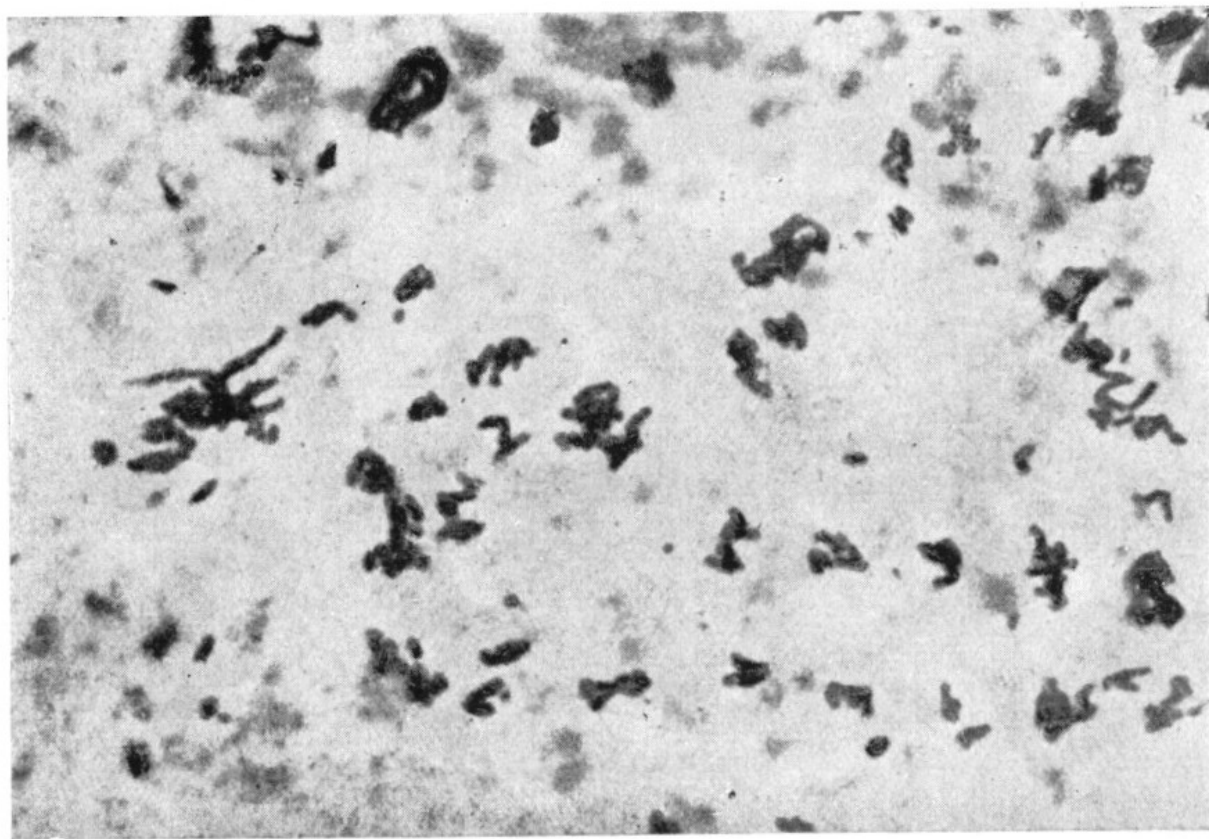


Fig. 1. — Riproduzione fotografica di una figura riportata nella nota di Castellani, Servino e Tarizzo del 1949. Questa figura mostra elementi batterici a forma bacillare, con rigonfiamenti terminali o centrali, disposti a V, a L, a palizzata, a zooglee. (Ingrandimento $\times 1200$).

mità sinistra della figura, sulla linea mediana orizzontale e che appaiono più lunghi di tutti gli altri (*);

b) già a occhio nudo, ma meglio ancora con una lente di ingrandimento, è facile apprezzare batteri provvisti di rigonfiamento terminale, per cui assumono l'aspetto di clava, oppure di rigonfiamento centrale — come si vede benissimo nei due batteri lunghi circa 6μ già sopra notati — per cui assumono l'aspetto di fuso;

c) sono rari i batteri isolati, mentre nella loro grandissima maggioranza sono riuniti in gruppi costituiti da due elementi disposti a V,

(*) Questi due elementi batterici nella figura originale misurano 7 mm. , ma poichè l'ingrandimento è di 1200 diametri la loro lunghezza reale è $\text{mm. } 7 : 1200 = \text{mm. } 0,0058$, ossia circa 6μ .

a L, o paralleli, oppure da più o meno numerosi batteri disposti a palizzata, o che si intersecano variamente tra loro a costituire zooglee più o meno voluminose.

Orbene, queste caratteristiche morfologiche e di aggruppamento non sono forse proprie del genere *Corynebacterium*?

Ma nella stessa nota di CASTELLANI, SERVINO e TARIZZO⁽³⁾, dalla quale ho ricavato la mia Fig. 1, si trova pure accennata

d) la presenza, negli elementi batterici più lunghi, di formazioni granulari terminali o subterminali e non debordanti, che assumono il colore più intensamente del corpo batterico.

E queste formazioni granulari non possono forse essere i granuli polari o metacromatici dei Corinebatteri?

Il complesso di questi rilievi mi dette pertanto l'impressione — evidentemente abbastanza fondata — che ci si trovasse di fronte ad un Corinebatterio e ciò mi indusse ad intraprendere ulteriori indagini in proposito.

Qui ritengo opportuno richiamare l'attenzione sul fatto che le indagini in parola furono da me intraprese nel 1949 dopo essere venuto a conoscenza della sopra citata nota di CASTELLANI, SERVINO e TARIZZO⁽³⁾ e furono eseguite utilizzando due culture di *Micrococcus mycetoides* ricevute una dal Prof. CASTELLANI nel dicembre 1947 e conservata con periodici passaggi nella collezione batterica del nostro Laboratorio e l'altra nel gennaio 1950 dal Prof. GIROLAMI, Direttore della Clinica delle malattie tropicali e subtropicali dell'Università di Roma (*).

Quando dunque il *Micrococcus mycetoides* fu da me preso in esame, aveva ormai certamente raggiunto un completo adattamento alla vita saprofitica nei substrati artificiali di cultura in seguito ai numerosi passaggi in essi subiti. Ed io ritengo che proprio per questo adattamento il germe sia venuto a mostrare sempre più evidenti le caratteristiche che aveva tendenza ad assumere e che si sono pertanto rivelate nella maggior parte degli elementi batterici, come risulta dalle microfotografie che passo ad illustrare brevemente. Il loro ingrandimento è di 1.000-1.200 diametri e sono state scelte come le più dimostrative, tra le molteplici microfotografie ricavate da numerosi preparati allestiti da culture del *Micrococcus mycetoides* in agar semplice, agar glucosato al 2%, agar-sangue, siero di LÖFFLER, brodo comune, brodo di KLODNITZKI e Siero-Uovo-Tellurito (S.U.T.) PERGOLA, solidificato e liquido.

Le Figure 2 e 3 mostrano gli ingrossamenti per lo più terminali:

(*) Ai Professori Castellani e Girolami porgo qui pubblicamente i miei più sentiti ringraziamenti.

Fig. 2 — Gli elementi batterici sono raccolti negli aggruppamenti caratteristici dei Corinebatteri e mostrano evidenti ingrossamenti terminali a clava, come più particolarmente si rileva nella zooglea centrale.

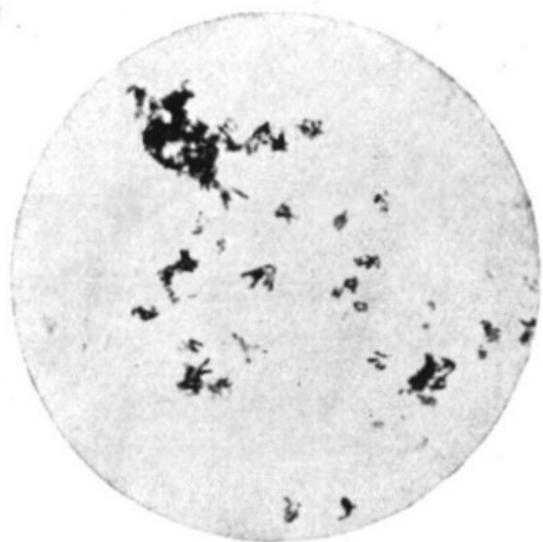


Fig. 2 — Da cultura in agar glucosato al 2%. Si vedono elementi batterici a forma bacillare, disposti negli aggruppamenti caratteristici dei Corinebatteri e provvisti di ingrossamenti terminali a clava. (Ingrandimento $\times 1000$).



Fig. 3. — Da cultura in siero di Löffler. Numerosi bacilli piuttosto lunghi a forma clavata o a manubrio. (Ingrandimento $\times 1200$)

Fig. 3 — Vi si vedono numerosi elementi lunghi, a forma nettamente clavata e più di rado a manubrio, variamente runiti tra loro. Non mancano elementi isolati, provvisti essi pure di evidenti rigonfiamenti terminali a clava.

Le Figure 4 e 5 si riferiscono alla dimostrazione dei granuli polari o metacromatici. Questi si mettono bene in evidenza con tutti i metodi proposti a tale scopo e benissimo poi col mio metodo della *colorazione ridotta* (*), col quale appunto sono stati allestiti i preparati delle due figure in parola.

Fig. 4 — Rappresenta un preparato proveniente da cultura in agar comune: in questo terreno il *Micrococcus mycetoides* dà costantemente granuli metacromatici piuttosto grossi ed abbondanti già dopo 4 o me-

(*) Detto metodo di colorazione comprende i seguenti tempi: 1) Trattamento a freddo del preparato, per 10-15 secondi o più, col bleu di metilene acetico di Neisser. Lavare con acqua. 2) Trattamento per 10-15 secondi o più colla soluzione iodo-iodurata di Lugol. Lavare con acqua, asciugare, esaminare.

glio 2 giorni di cultura. Vi si vedono batteri corti o di media lunghezza, provvisti per lo più di due granuli situati ai poli, ma non mancano anche elementi con più di due granuli.

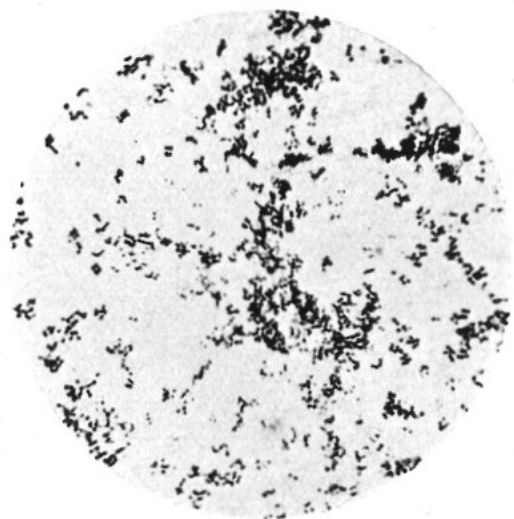


Fig. 4. — Da cultura in agar comune. Bacilli corti o di media lunghezza, provvisti di granuli metacromatici piuttosto grossi. (Ingrandimento $\times 1000$)

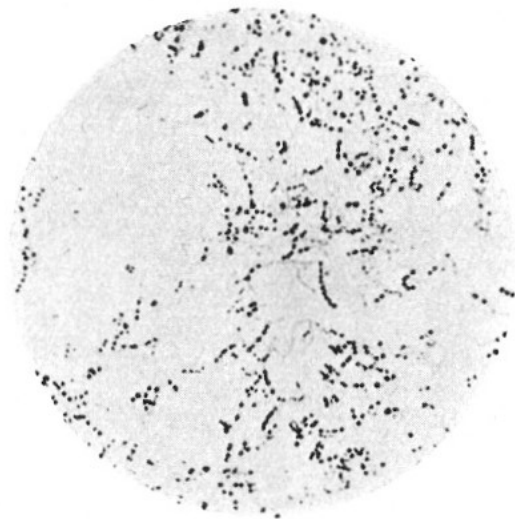


Fig. 5. — Da cultura in siero di Löffler. Bacilli lunghi o di media lunghezza, con abbondanti esili granuli metacromatici. (Ingrandimento $\times 1200$)

Fig. 5 — A differenza della cultura precedente, questa, oltre elementi di media lunghezza, mostra pure numerosi elementi lunghi, a forma delicatamente ma evidentemente clavata e contenenti numerosi granuli più esili di quelli che si riscontrano nelle culture in agar e disposti a catenella laddove sono più abbondanti.

Aggiungerò inoltre che trattando i preparati con soluzioni coloranti diluite — per esempio fucsina Ziehl diluita al decimo — non è raro rinvenire elementi batterici che assumono colorazione discontinua.

Interessa infine notare che i rilievi di CASTELLANI e Collaboratori sul vario comportamento del *Micrococcus mycetoides* al Gram e sul suo polimorfismo non contraddicono, ma anzi confermano, la natura corinebatterica del germe stesso. Basta invero ricordare quanto si sa in proposito per il prototipo dei Corinebatteri: il *Corynebacterium diphtheriae*, quello cioè che è stato maggiormente sottoposto ai più particolareggiati studi, dai quali appunto risulta che esso può manifestarsi Gram-positivo, o Gram-negativo, in rapporto a molteplici fattori, e che la sua morfologia — come vi ho richiamato l'attenzione ⁽⁷⁾ fino dal 1919 — è suscet-

⁽⁷⁾ PERGOLA M.: Annali d'Igiene, 29, 496, 1919.

tibile di notevoli variazioni in dipendenza di circostanze intrinseche e di circostanze estrinseche al germe stesso, le quali ultime si riassumono essenzialmente nei caratteri fisici e nella costituzione chimica del mezzo in cui il *Corynebacterium diphtheriae* viene a trovarsi.

Concludendo, dunque, da quanto si è riferito si deduce che il Micrococcus (*Coccobacillus*) *mycetoides*, CASTELLANI 1942,

- a) ha forma bacillare;
- b) presenta rigonfiamenti terminali a clava nella maggior parte dei suoi elementi;
- c) si trova disposto a V, a L, a palizzata, a zooglee;
- d) è provvisto di granulazioni polari, metacromatiche;
- e) assume colorazione discontinua.

Poichè queste sono precisamente le caratteristiche essenziali dei Corynebatteri, è appunto al genere *Corynebacterium* che io ritengo sia da ascrivere il cosiddetto Micrococcus (*Coccobacillus*) *mycetoides* CASTELLANI 1942, agente specifico della « *Ulcera tropicale superficiale o Ulcera tropicaloide o Ulcera micetoide del deserto* ».

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di microbiologia.

Nota. — Per completare la bibliografia — di cui sono venuto a conoscenza — sull'argomento trattato nel presente studio, aggiungerò che al VI Congresso Internazionale di Microbiologia, tenutosi a Roma dal 6 al 12 settembre 1953, Vincenzo Servino, della Clinica delle Malattie Tropicali dell'Università di Roma, ha fatto la seguente comunicazione, della quale riporto qui il riassunto compilato dall'A. stesso:

« *Ricerche sul Micrococcus Mycetoides, Castellani 1942* ».

Il micrococcus *mycetoides* è l'agente etiologico della Dermatite ulcerosa micetoidea di Castellani (Servino e Tarizzo).

Il ceppo originale, conservato nella batterioteca della Clinica delle malattie tropicali di Roma, è stato inoculato, mediante una leggera abrasione, sulla gamba di un volontario che dieci anni fa si era spontaneamente offerto per lo stesso esperimento e nel quale era stata riprodotta una tipica dermatite ulcerosa.

Dopo venti giorni, nella sede dell'attuale inoculazione, si è sviluppata una lieve infiltrazione, di colorito roseo, lievemente dolente, discretamente pruriginosa, lievemente desquamante in superficie. Scarificazioni e punture della chiazza di infiltrazione hanno permesso di mettere in evidenza la presenza del *Micrococcus mycetoides*.

E' interessante notare come i microrganismi isolati erano tutti cocchi e tutti gram negativi. (Riassunti delle comunicazioni, Volume II, Riassunto-N. 663, pag. 399).