

67. B. BABUDIERI. — Osservazioni al microscopio elettronico sulle spirochete della febbre ricorrente.

Riassunto. — L'A. descrive la morfologia del genere *Spironema*, studiato al microscopio elettronico.

Résumé. — L'A. décrit la morphologie du genre *Spironema* étudié au microscope électronique.

Summary. — The A. describes the morphology of the genus *Spironema* studied with the electron microscope.

Zusammenfassung. — Der Verfasser beschreibt die Morphologie der Spirochaetengattung *Spironema*, die er mit dem Elektronenmikroskop studiert hat.

In un lavoro pubblicato nel dicembre del 1945 su *J. of Bacteriology* e, causa le attuali contingenze, giunto ora appena a mia conoscenza, Lofgren e Soule descrivono la struttura di *Spirochaeta novyi*, studiata al microscopio elettronico.

Poichè già due anni prima avevo pubblicato i risultati di una mia analoga ricerca su di una rivista che, dato lo stato di guerra, non è potuta giungere in America, e poichè i risultati da me ottenuti e le conclusioni tratte non concordano in tutto con quelle dei due AA. americani, ho ritenuto opportuno riassumere qui i risultati delle mie ricerche.

Le mie osservazioni sono state eseguite su di un ceppo di *Sp. novyi* e su uno di *Sp. obermeieri*, passati in topini o coltivati in terreno di Illert. Non si notarono apprezzabili differenze fra le spirochete coltivate in vivo e quelle coltivate in vitro.

Contrariamente a quanto fatto dagli AA. americani, ho ritenuto opportuno fissare le spirochete con vapori di acido osmico, per evitare loro alterazioni nel corso delle successive centrifugazioni frazionate necessarie per liberarle da materiali estranei.

Mentre secondo Lofgren e Soule le spirochete avrebbero estremità appuntite (veramente nelle fotografie pubblicate se ne vedono anche con

estremità arrotondate), io ho costantemente trovato due tipi di spirochete uno con ambedue le estremità appuntite (fig. 1) e uno con una estremità appuntita ed una arrotondata (fig. 2). La proporzione fra i due tipi varia. Nelle culture in attiva fase riproduttiva il primo tipo è nettamente predominante: in quelle invece in cui l'attività di riproduzione è più scarsa, i due tipi si trovano all'incirca nel rapporto di 1:1.

Io spiego questo dimorfismo con l'ipotesi che la forma tipica dello *Spironema* in riposo sia quella che presenta una estremità appuntita ed una arrotondata. Nel processo riproduttivo la spirocheta presenta uno strozzamento centrale che s'accentua sempre più, fino ad arrivare al distacco dei due elementi (fig. 3). Di questi l'uno avrà evidentemente una estremità affilata (la neoformata) e una arrotondata (la preesistente), mentre le estremità dell'altra saranno ambedue affilate. Se il ritmo riproduttivo è molto rapido, alla prima seguono divisioni successive senza che la spirocheta passi 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.

Il protoplasma, tanto secondo le ricerche dei due AA. americani, che secondo le mie, non presenta particolari degni di nota, all'infuori di qualche vacuolo (fig. 4) e di qualche granulo (secondo me però soltanto in spirochete alterate).

La presenza di un eventuale assistile non è confermata nè da me, nè dagli AA. americani.

Una vera membrana limitante non è stata da me vista neppure in spirochete in procinto di dividersi o in spirochete in cui s'era artificialmente provocata una plasmolisi. Lofgren e Soule ne ammettono la esistenza più che altro in base alla comparsa di filamenti in spirochete idrolizzate, filamenti che essi ritengono provenire dalla membrana disfatta, che avrebbe una costituzione fibrillare. Come dirò più avanti, io interpreto diversamente la natura di questi filamenti. Ad ogni modo ritengo molto probabile per lo meno l'esistenza di un addensamento periferico del protoplasma, che costituisce una sorta di membrana.

Gli AA. americani non fanno cenno della presenza di una membrana ondulante. Io sono riuscito a metterla molto bene in evidenza (fig. 5). Essa inizia poco sotto l'estremità e accompagna in tutta la sua lunghezza

il corpo della spirocheta. La sua larghezza è di circa 0,05-0,1 μ . Se macerata, essa si scompone in sottili fibrille che possono simulare la presenza di flagelli. Queste fibrille sono state interpretate da Lofgren e Soule come provenienti dal periplasto. Secondo me invece esse derivano dalla scomposizione della membrana ondulante. Hanno infatti un decorso sinuoso, come quest'ultima: non si trovano mai contemporaneamente da ambedue i margini della spirocheta, come accadrebbe se derivassero dalla membrana limitante, e finalmente in qualche caso si può chiaramente assistere allo sfibrillamento della membrana ondulante (figg. 6-8).

Lofgren e Soule trovano, nelle spirochete idrolisate, filamenti e flagelli terminali che ritengo però artefatti e dovuti a disfacimento della membrana avvolgente.

Nelle spirochete con due estremità appuntite non ho mai trovato veri flagelli; in quelle invece presentanti un'estremità arrotondata, ho visto distaccarsi, sempre a breve distanza da quest'ultima, o un ciuffo di 3-10 sottili flagelli, lunghi anche oltre 5 μ (fig. 9-10), o un filamento più grosso di uguale lunghezza (fig. 11). Non posso stabilire se la forma normale sia quest'ultima, e se i flagelli derivino da una scomposizione di tale filamento, o se al contrario il filamento sia il prodotto dell'agglutinazione dei flagelli. Ad ogni modo tali formazioni non sono da considerarsi, a mio giudizio, come artefatti.

Granuli e sfere extraspirochetici, come quelli descritti da Lafgren e Soule, sono stati da me visti qualche volta, ma dubito che possano avere un qualche rapporto con le spirochete.

In conclusione le mie ricerche mi 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. Manca una vera membrana avvolgente. Esiste una membrana ondulante. Esiste, nelle forme con un'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.

La presenza di flagelli e di una membrana ondulante tende ad avvicinare singolarmente il genere *Spironema* al gruppo dei tripanosomi, come già Schaudinn oltre 50 anni fa aveva intravvisto.

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.

Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Microbiologia e Laboratorio di Fisica. 19 aprile 1948.

BIBLIOGRAFIA

- B. BABUDIERI e D. BOCCIARELLI, Ricerche di microscopia elettronica. Nota I, Studio morfologico del genere Spironema, questi Rendiconti 6, 305 (1943).
R. LOFGREN e M. H. SOULE, The structure of Spirochaeta novyi as revealed by the electron microscope, J. of Bacter, 50, 679 (1945).

Tutte le fotografie sono ingrandite circa 20.000 x.

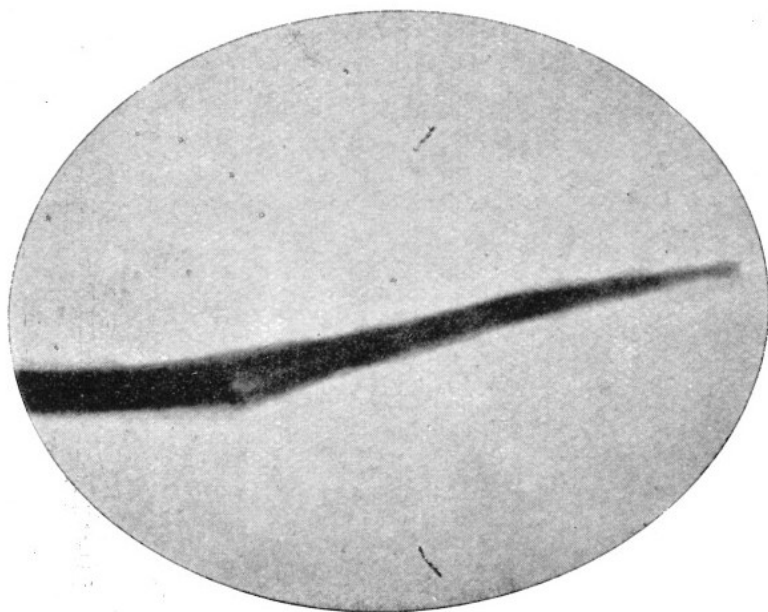


FIG. 1.

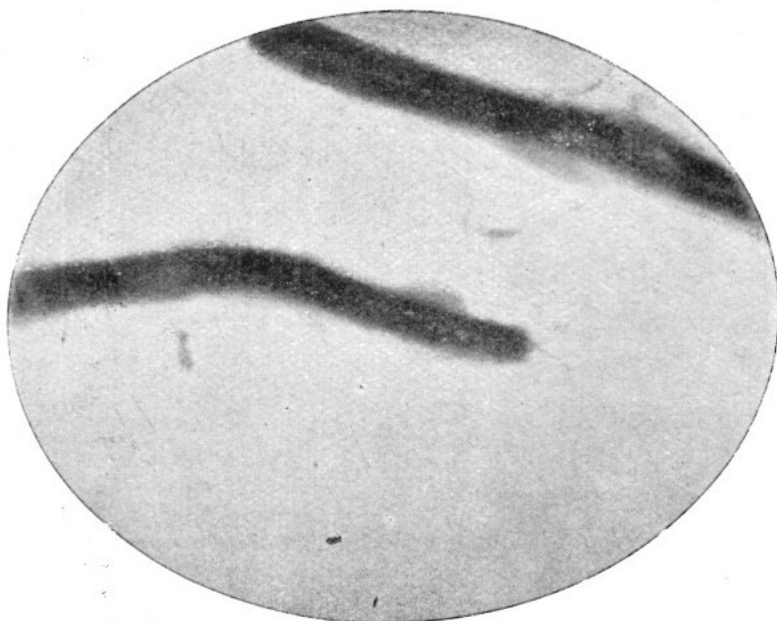


FIG. 2.

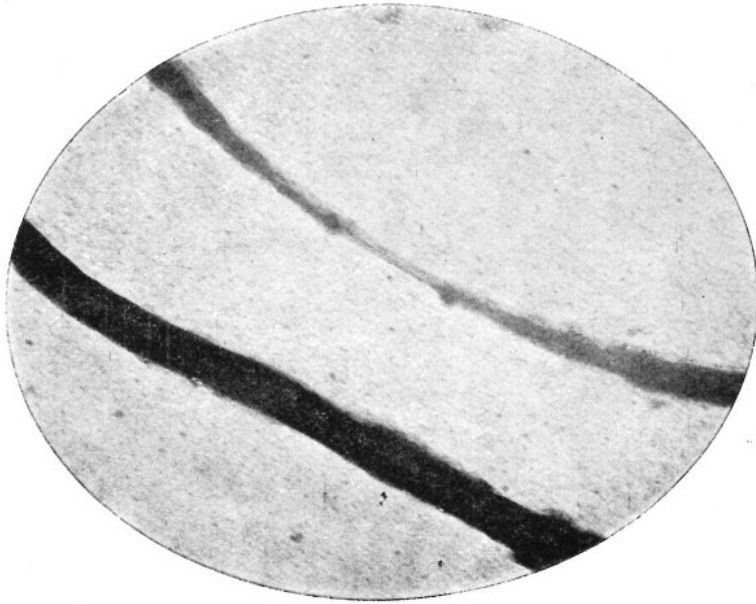


FIG. 3.

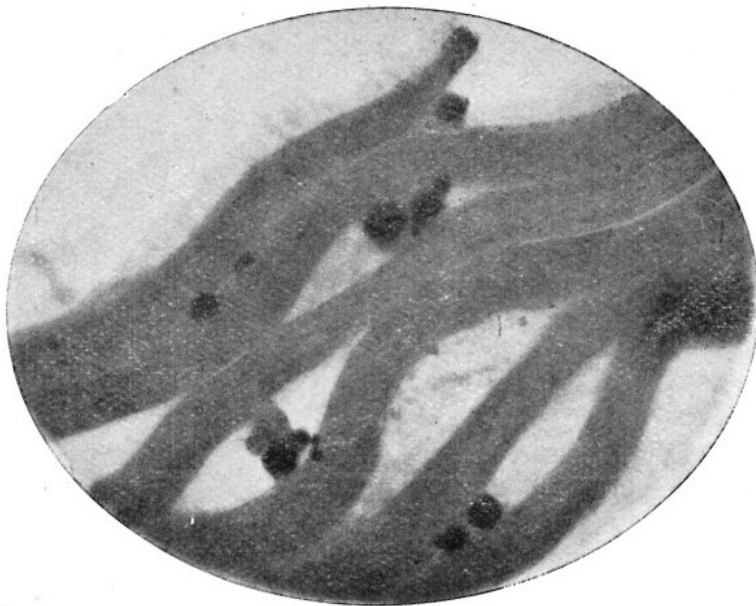


FIG. 4.

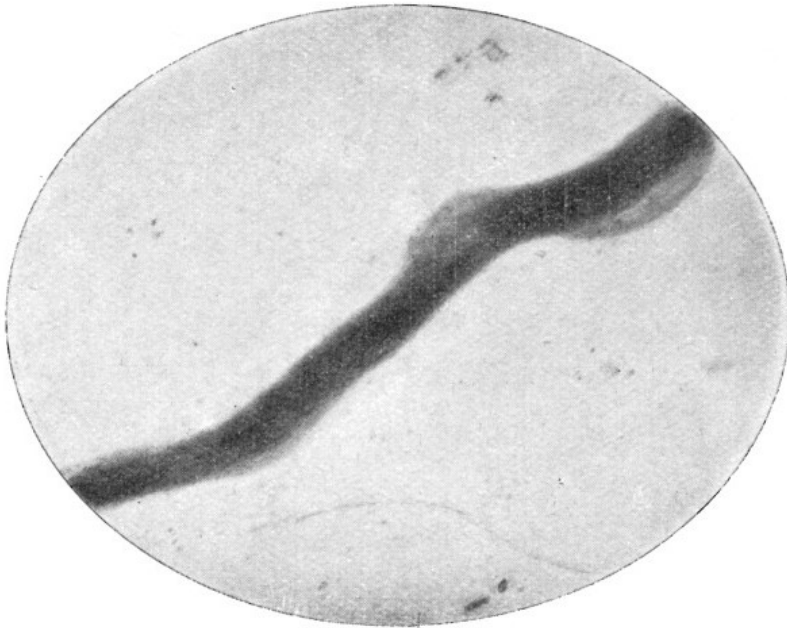


FIG. 5.

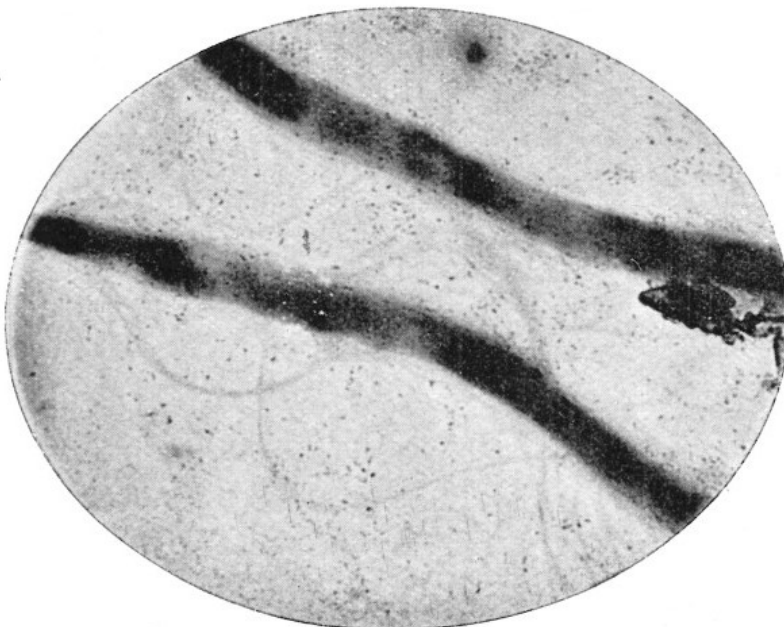


FIG. 6



FIG. 7.



FIG. 8.

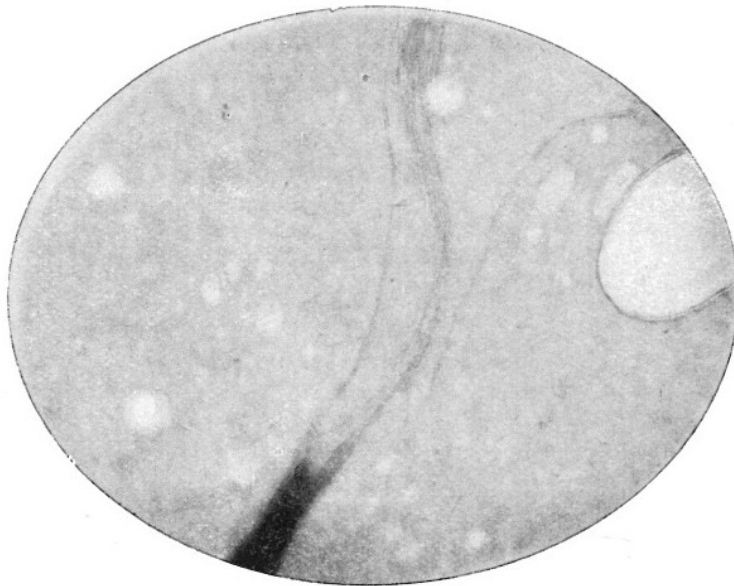


FIG. 9.

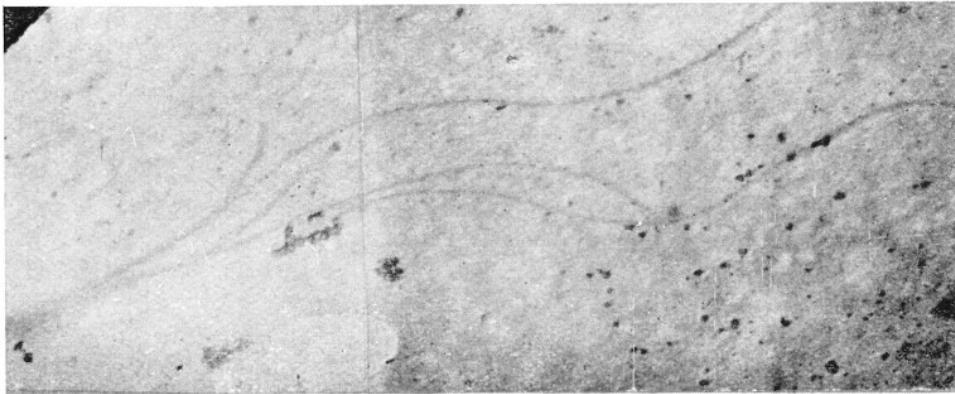


FIG. 10.

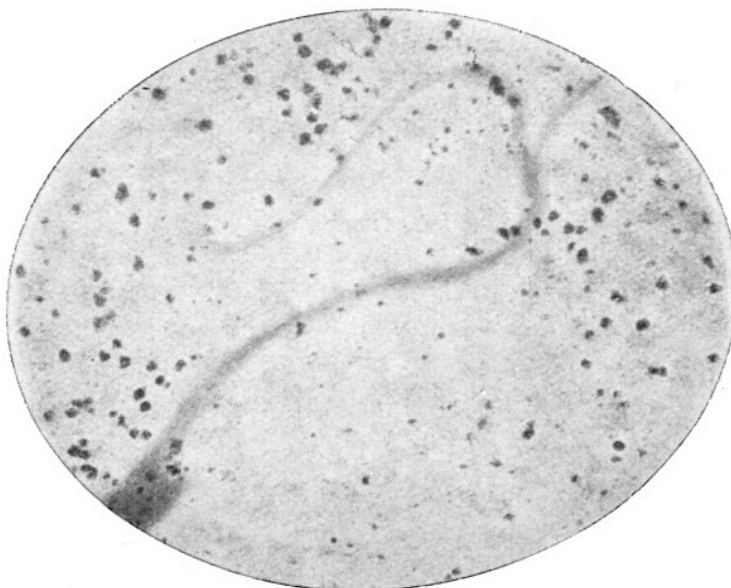


FIG. 11.