Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Istituto di Parassitologia Medica della R. Università di Roma, diretto dal Prof. Giulio Alessandrini.

Sui Protozoi coltivati dalle feci umane normali.

Per

il dott. **Giuseppe Penso**, aiuto.

(Con 22 figure nel testo.)

É noto come nelle feci lasciate a sè per qualche tempo si vengano spesso a notare alcune forme protozoiche vive e attivamente mobili, forme che si possono con maggior facilità e in maggior numero mettere in evidenza coltivando le feci.

Tali organismi furono chiamati Coprozoi o Protozoi coprofili, nome che non indica. però, un determinato gruppo naturale nel sistema zoologico, ma si riferisce all'habitat di un certo numero di organismi appartenenti a gruppi diversi.

Uno studio completo e sistematico di questa microfauna protozoica fecale non é stato mai compiuto. I vari ricercatori si sono sempre limitati a descrivere questa o quella forma rinvenuta, a considerare queste come specie nuove — mentre erano già state descritte nell'ambiente esterno — e a chiamarle con l'errato nome di „parassiti".

Abbiamo voluto, per questo, studiare ampiamente l'argomento; occupandoci, peró, solamente di quei Protozoi che si coltivano dalle feci, e non di quelli che, pur non essendo patogeni, si rinvengono viventi e mobili nelle feci appena emesse e che, magari, più tardi, a temperatura ambiente, finiscono con l'incistarsi.

Noi crediamo, anzi, che volendo raggruppare scolasticamente i vari Protozoi, nel gruppo di quelli cosidetti „coprofili" vadano messi soltanto i Protozoi che si coltivano dalle feci, mentre quelli che, con le feci stesse, vengono emessi allo stato vegetativo, debbano essere considerati come Protozoi intestinali, ospiti innocui, simbionti

o commensali, se non, qualche volta e in determinate condizioni, addirittura come parassiti dell'organismo umano.

* * *

L'origine dei Protozoi coprofili può essere doppia: o essi provengono dall'ambiente esterno per contaminazione delle feci già emesse — contaminazione dovuta o a recipienti sporchi, o ad acqua inquinata, o a insetti vettori di cisti —, o essi sono introdotti per via boccale con l'acqua o gli alimenti crudi, e introdotti sia allo stato cistico che a quello vegetativo. In questo caso essi, giungendo a contatto dei succhi intestinali e a una temperatura anormale per loro, si incistano per difendersi, e incistati vengono, poi, emessi con le feci.

Nello studio da noi eseguito, abbiamo cercato di eliminare nella miglior maniera possibile ogni causa di contaminazione esterna, allo scopo di studiare solamente quei Protozoi che hanno realmente attraversato l'intestino umano.

Abbiamo, così, raccolto sterilmente le feci, facendo defecare, dopo aver fatto lavare con cura la regione anale, in appositi recipienti sterilizzati a secco in forno Pasteur.

In questa maniera crediamo avere eliminato, in gran parte ogni causa di errore e possiamo credere che i Protozoi da noi visti e studiati siano tutti di provenienza intestinale.

Culture.

Numerosi sono stati i terreni di cultura provati. dall'acqua distillata all'NNN, passando per l'aqua fontis, la soluzione fisiologica, l'acqua peptonata, il brodo — sia di carne che Liebig — l'agar, i terreni biliati, e per quello semplicissimo di MUSGRAVE e CLEGG (11).

Diremo subito come il massimo sviluppo di Protozoi lo abbiamo sempre e costantemente avuto in soluzione fisiologica mantenuta a temperatura ambiente.

Nel brodo, solo ogni tanto qualche forma era reperibile, e così nell'acqua di condensazione dell'NNN e nel terreno di MUSGRAVE e CLEGG. La bile impedisce assolutamente lo sviluppo di ogni Protozoo, i quali, invece, si coltivano anche abbastanza bene in acqua peptonata, mai, però, con quel rigoglio come si può avere in semplice soluzione fisiologica.

In termostato le culture di questi Protozoi coprofili sono state sempre negative.

Noi seguivamo questa semplicissima tecnica: in una piccola capsula di Petri mettevamo qualche centimetro cubi di soluzione fisiologica nella quale, poi, stemperavamo con cura due o tre ansate di feci; coprivamo e attendevamo.

Per solito, nelle prime dodici ore non si coltiva nulla, solo oltre la dodicesima ora cominciano a comparire dei piccolissimi Protozoi che si muovono con notevole velocità, e poi, successivamente, con l'aumentare del tempo, compaiono forme più grandi, sino a che, verso il quarto giorno, la cultura raggiunge il suo massimo di floridezza.

Noi abbiamo potuto, così, conservare in vita moltissimi generi e specie di Protozoi anche per molte settimane, fino a due mesi. Abbiamo notato, poi, come nei periodi invernali le culture riescano più rigogliose che non nelle altre epoche dell'anno.

Nelle culture, però, avvengono spesso curiosi fenomeni. Dopo che, come abbiamo già accennato, la cultura raggiunge il suo massimo di floridezza, avviene che alcune specie, o, più spesso, una sola specie di Protozoi prende il sopravvento e sembra che essa sia la sola capace di coltivarsi, giacché le altre specie o scompaiono, o se ne possono vedere le cisti, di solito molto più piccole della forma libera. Ma, invece, così non é: dopo qualche tempo — uno, due, tre, quattro giorni, a seconda —, la vita sembra ridestarsi in pieno, la specie che aveva dominato comincia a diminuire e talvolta scompare, mentre altre due o tre specie prendono il sopravvento, il predominio e così di seguito, finché ricompaiono le specie che si erano incistate e così via.

Noi crediamo che questo alternarsi sulla scena delle diverse specie di Protozoi, si possa spiegare con la seguente ipotesi:

Ogni Protozoo ha un suo ricambio particolare; assume gli alimenti e i gas atti alla sua respirazione dall'ambiente, e dopo averli assorbiti, trasformati, digeriti, li elimina. Questi prodotti di eliminazione debbono, evidentemente, come tutti i prodotti di eliminazione, essere tossici per l'individuo che li ha emessi; nei primi tempi, però, tali prodotti si diluiscono nell'ambiente, di modo che al Ptotozoo che li ha eliminati non possono riuscire dannosi; ma, quando, dopo qualche tempo — sia per l'aumentato numero dei Protozoi, data l'attiva moltiplicazione, sia per la limitazione dell'ambiente —, quei prodotti tossici si sono accumulati, essi incominciano ad influire sulla vitalità del Protozoo che li ha emessi, per cui, questo, per difendersi, si incista. La reazione microchimica dell'ambiente, si é, così, venuta a cambiare, e questa nuova reazione, mentre era dannosa alla vita

del primo Protozoo, diviene favorevole allo sviluppo di un secondo, il quale uscirà dal suo stato cistico e verrà a svilupparsi nel l'ambiente, elaborerá più o meno le tossine emesse dal primo, ne eliminerà delle nuove a lui dannose, finché, saturato l'ambiente, si incisterà anche lui. Se la nuova reazione ambientale sarà favorevole alla vita del primo Protozoo, questi riprenderà la sua vita attiva, altrimenti sarà un altro e così di seguito, finché si verranno a riformare le condizioni ideali di sviluppo del primo Protozoo, il quale, risorgendo a nuova vita, inizierà di nuovo il ciclo che si svolgerà come il precedente, a meno che non intervengano nuovi fatti a interromperne e deviarne la regolare successione.

Colorazione.

Vari metodi di colorazione abbiamo adottato per studiare i Protozoi coltivatisi: abbiamo adoperato le colorazioni vitali a base di bleu di metilene e eosina in soluzione acquosa, abbiamo adoperato gli stessi colori in soluzione alcoolica, soli o uniti, abbiamo usato il GIEMSA, la colorazione di MANN, l'ematossilina ferrica, sia nel metodo classico di HEIDENHAIN, sia in quello modificato di DOBELL, l'ematossilina ferrica di JANSEN, e il LUGOL. Abbiamo, infine, adoperato qualche volta, e con successo, l'impregnazione all'inchiostro di Cina.

Abbiamo potuto constatare come i metodi migliori siano, oltre quelli alla ematossilina ferrica, quelli ad azione rapida, quelli che non permettono al Protozoo di coartarsi, di modificarsi, di alterarsi nella sua normale forma e struttura, e come il metodo che in linea di massima abbia meglio corrisposto sia stato quello all'eosina rossa-bleu di metilene: eosina rossa in soluzione alcoolica all'1 % e bleu di metilene in soluzione acquosa all'1 per 500, una goccia di eosina in due di bleu di metilene. Questa colorazione mette particolarmente in evidenza i flagelli, mentre permette anche lo studio della struttura protoplasmatica e nucleare del Protozoo, presentando il grande vantaggio di essere una colorazione rapidissima, istantanea.

A una goccia del colore sopradetto, univamo una ansata di materiale da esaminare, mescolavamo con un ago e poi coprivamo con un vetrino copri-oggetti e osservavamo immediatamente.

Volendo un preparato costante, dopo avere al colore unito il materiale da esaminare, si può, prendendone una piccola goccia con un vetrino, far lo striscio, che, seccato, si osserverà a immersione, sia senza vetrino copri-oggetti che chiuso in balsamo.

Protozoi coltivati.

Prima di passare alla enumerazione e descrizione dei Protozoi coltivati, vogliamo mettere subito in evidenza un fatto che crediamo degno di interesse, e precisamente quello che nelle varie culture fatte si sono sempre sviluppate le stesse specie di Protozoi, specie che se pure sono numerose, sono sempre costantemente le stesse; possiamo affermare senza tema questo, giacché le osservazioni fatte sono state molto numerose e durate oltre tre anni.

Altra cosa da mettere in evidenza é che dei Protozoi non si sono coltivati che Rizopodi e Flagellati; pochi Rizopodi, molti Flagellati, mai Ciliati.

Rizopodi.

Kartulis (8), per primo, nel 1891, coltivò una Ameba dalle feci credendo di coltivare quella della dissenteria; ma Celli e Fiocca (4—5) prima (1894—1895), Casagrandi e Barbagallo (2—3), poi (1895—1897), dimostrarono come le culture in genere non contengano che Amebe libere non parassite. Musgrave e Clegg (11—12), successivamente, nel 1904 e 1906, tentando isolare le Amebe patogene non fecero che coltivare Amebe non patogene. In seguito Wenyon (17), nel 1907, ripetendo le esperienze spiegò il fenomeno ammettendo che le Amebe che si coltivavano dalle feci non dovevano essere che Amebe le cui cisti erano state ingerite con l'acqua. E così Whitmore (19), nel 1911, e Walker e Sellards (15), nel 1913.

Le Amebe coltivate dalle feci umane non appartengono, di solito, che ai generi *Hartmannella*, *Sappinia* e *Dimastigamoeba*. Il genere *Sappinia*, però, é molto raro ad incontrarsi nelle feci umane, mentre é comune nelle feci di altri animali, come affermano Dobell e O'Connor (7). Diremo subito che noi, malgrado le lunghissime ricerche fatte, non lo abbiamo mai veduto.

* * *

I Rizopodi da noi osservati nelle nostre culture appartengono alle famiglie *Amoebidae*, *Dimastigamoebidae*, e *Rhizomastigidae*, seguendo la classificazione di Wenyon (18) sull'ordine *Amoebida*.

Fam. *Amoebidae*.

Della famiglia *Amoebidae* abbiamo veduto diversi esemplari.

Con maggior frequenza abbiamo incontrato una Ameba (Fig. 1) di aspetto tipico e costante: di forma per lo più allungata, misurante

25—30 μ per 10—12; questa Ameba non presenta alcuna differenzazione tra endo ed ectoplasma: ha, in genere, il citoplasma granuloso, costantemente senza vacuoli e senza corpo glicogenico, il nucleo é rotondeggiante, ben visibile a fresco e con il cariosoma nettamente centrale. I movimenti sono rapidissimi, non a scatti, però; gli pseudopodi, piuttosto allungati, si formano per progressione continua del protoplasma; essi si presentano, poi, sempre granulosi, assolutamente non differenziati dal resto del protoplasma.

Non sappiamo a quale genere si possa assegnare questa Ameba: é una *Hartmannella*? le Hartmannelle hanno l'ectoplasma ben distinto dall'endoplasma, hanno un vacuolo contrattile, sono di forma per lo più tondeggiante e sono piuttosto piccole; nulla di questo nella nostra Ameba, nella quale, poi, malgrado le ricerche fatte, non siamo mai riusciti a mettere in evidenza la divisione nucleare sulla quale si sarebbe potuto basare con maggior sicurezza una diagnosi di precisione. Cio nonostante, noi crediamo che, per i più su descritti caratteri, si possa senza dubbio escludere che si trattasse di una *Hartmannella*.

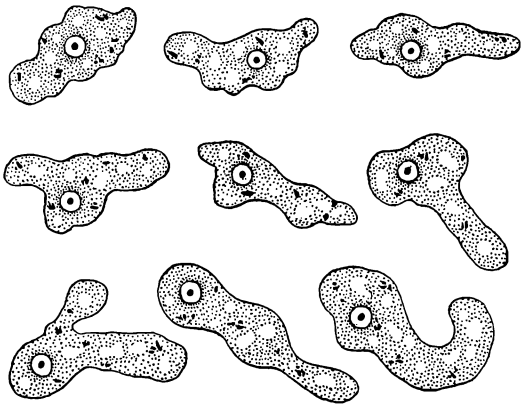

Fig. 1.

Anche il genere *Vahlkampfia* ci sembra si possa escludere dato che le Vahlkampfie, oltre ad avere l'ectoplasma ben differenziato dall'endoplasma, hanno quest'ultimo tutto vacuolare; il loro nucleo, poi, presenta un cariosoma molto voluminoso, condizione, questa, che nella Ameba da noi vista non esiste assolutamente.

Del genere *Sappinia* non é il caso di parlare giacché le Sappinie sono binucleate, e nemmeno del genere *Pelomyxa*; giacché a questo appartengono individui molto grandi di un millimetro e più.

Potrebbe essere una *Entamoeba*, ma le Entamoebe allo stato vegetativo si trovano solamente nell'intestino di animali viventi, il che fa escludere l'ipotesi; non occorrono molti argomenti, poi, per escludere si trattasse di una *Jodamoeba* o di una *Dientamoeba*, giacché

le note caratteristiche di questi generi sono ben diversi da quelle che presenta la nostra Ameba.

Noi crediamo, piuttosto, che l'Ameba da noi coltivata si potrebbe includere nel genere *Amoeba*, genere nel quale sono incluse la maggior parte delle Amebe viventi allo stato libero, genere che, però, dovrà, subire numerose revisioni, in quanto che in esso sono compresi individui la cui morfologia e il cui sviluppo sono in parte sconosciuti, individui che si dovranno assegnare a questo o a quell'altro genere, per questo o quei determinati caratteri che, coll'aumentare delle ricerche e con l'intensificare degli studi, potranno meglio mettersi in evidenza.

Posto che l'Ameba in discussione appartenga realmente al genere *Amoeba*, di quale specie si tratterà?

A noi sembra che essa non si possa identificare con nessuna delle Amebe limicole più comunemente note; non é, infatti, la nostra, una *Amoeba proteus* sia per la sua grandezza, molto minore dell'*A. proteus*, sia per il suo aspetto e comportamento non proteiforme; non é una *Amoeba limax*, giacché questa presenta un estremo villoso, mentre la nostra no; non é una *Amoeba radiosa*, giacché i suoi pseudopodi non sono disposti a raggi; non é una *Amoeba guttula*, giacché questa presenta un grande vacuolo pulsatile; non é una *Amoeba striata*, giacché questa possiede ben due vacuoli pulsatili dei quali uno canbiabile continuamente di forma, non é un'*A. vespertilio*, giacché questa misura oltre 200 μ di diametro.

Si tratta, dunque, di una specie nuova? probabilmente sì; noi, però, in coscienza, non ci sentiamo autorizzati ad affermarlo, giacché non abbiamo potuto seguire tutto il ciclo di vita dell'Ameba stessa. Quando si sarà potuto conoscere il suo stato cistico e il sistema di moltiplicazione nucleare, si potrà con maggiore sicurezza e più facilmente stabilire una diagnosi di specificità. Noi ci siamo limitati, per adesso, ad esporre le osservazioni fatte e a manifestare la nostra opinione e i nostri dubbi al riguardo. Quello che é certo, é che quest'Ameba é stata da noi più volte osservata e che essa non si può ravvicinare a nessuna delle più comuni Amebe conosciute.

Abbiamo poi riscontrato un'altra piccola Ameba (Fig. 2), di aspetto rotondeggiante ed ovalare, con ectoplasma molto refrangente e ben distinto dall'endoplasma, nettamente granuloso; il nucleo é molto grande, vescicoloso ed é occupato nella quasi totalità da un cariosoma che si colora intensamente col bleu di metilene in solu-

zione acquosa; il cariosoma é di solito centrale, si sposta, però, con i movimenti dell'Ameba, tanto che a volta ci é capitato di vederlo e disegnarlo nettamente eccentrico, direi quasi periferico.

Gli pseudopodi sono costituiti esclusivamente dall'ectoplasma refrangentissimo, sono corti, per lo più lobosi e si formano abbastanza rapidamente, quasi a scatto. Non ci fu mai dato di vedere vacuoli.

L'Ameba, come dicevamo, é piuttosto piccola, misura nella sua fase rotondeggiante un diametro di 8—10 μ, quando emette gli pseudopodi essa può raggiungere, nel suo asse maggiore, anche i 12—13 e persino 15 μ di lunghezza.

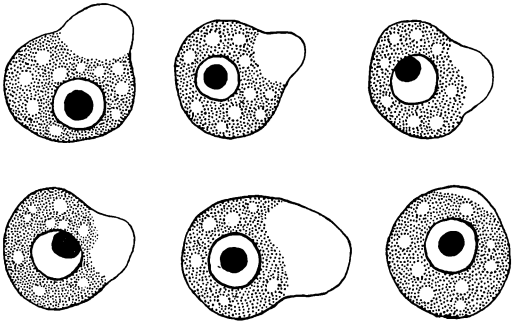

Fig. 2.

I caratteri di questa Ameba sono dunque la piccolezza, l'aspetto tondeggiante ed ovalare, la distinzione netta fra endo ed ectoplasma, la grandezza del nucleo e del cariosoma, ora centrale, ora eccentrico, l'assenza di vacuoli.

Come nel caso precedente, ci troviamo molto impacciati nel formulare una diagnosi di specificità. In questo caso, però, la nostra Ameba ci ricorda notevolmente l'*Amoeba guttula* pur discostandosene alquanto. WARD e WHIPPLE (16), infatti, danno di questa Ameba la seguente concisa descrizione: „Body usual oval in outline, moving with the broad and forward. Pseudopodia short, broad lobes produced by sudden expansions of the protoplasm. Nucleus single and one large contractile vacuole. Habitat stagnant water. Size 30 μ". Pur avendo, la nostra, numerosi punti di contatto con l'*A. guttula*, non si può con essa identificare, e nemmeno identificarla con le altre Amebe di cui ho parlato a proposito della precedente; che si tratti, piuttosto, di una specie affine all'*A. guttula*, di una varietà di questa, varietà dovuta all'ambiente di eccezione in cui essa si é sviluppata, varietà dovuta alla lotta che essa ha dovuto sostenere per sopravvivere alle influenze nocive a cui fu sottoposta durante la sua permanenza nell'intestino umano?

Probabilmente! Solo con nuove osservazioni e con nuove ricerche si potrà anche per questa Ameba precisare la sua netta posizione zoologica.

Della famiglia *Amoebidae* abbiamo avuto occasione di osservare ancora un altro esemplare.

Si trattava di una Ameba (Fig. 3) di aspetto per lo più tondeggiante, con ectoplasma jalino, refrangente, ben distinto dall'endoplasma granuloso, quasi vacuolare, con un solo vacuolo, però, nettamente distinguibile e quasi sempre pulsatile. L'ectoplasma circondava molto spesso quasi ad anello l'endoplasma; gli pseudopodi erano brevi e tozzi. Il nucleo, vescicoloso, presentava un cariosoma centrale molto grande, circondato, questo, da due o tre file di granuli di cromatina; il tutto era racchiuso entro una specie di membrana nucleare abbastanza ben distinta. Una volta, in un preparato colorato col metodo di Mann, abbiamo potuto osservare un individuo di questa specie che presentava il nucleo in divisione cariocinetica.

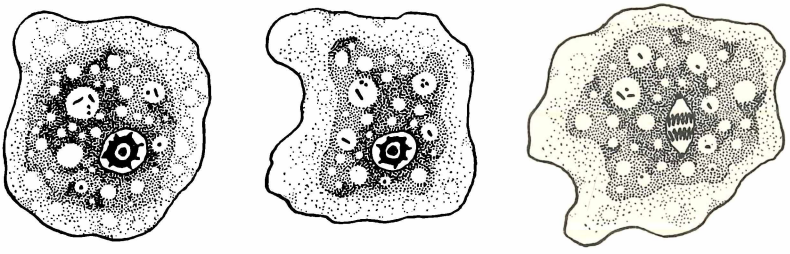

Fig. 3.

La dimensione di questa Ameba si aggirava sempre tra gli 11 e i 14 μ.

I caratteri di questa Ameba sono dunque la piccolezza, l'aspetto tondeggiante, la netta differenzazione tra endo ed ectoplasma, il quale é disposto quesi sempre ad anello intorno all'endoplasma, la presenza di un vacuolo pulsatile e di un nucleo provvisto di un grande cariosoma che si moltiplica per cariocinesi.

Da questi caratteri ci sembra che con sicurezza si possa assegnare l'Ameba in questione al genere *Hartmannella* e precisamente alla specie *Hartmannella jalina.*

Fam. *Dimastigamoebidae.*

Della famiglia *Dimastigamoebidae* abbiamo incontrato nelle nostre culture due soli individui, uno dei quali é fra i piú costanti a rinvenirsi e a coltivarsi: si tratta di un piccolo Protozoo di 8 o 9 μ di diametro, ma che può raggiungere anche i 13, 14 e persino i 15 e i 20 μ quando assume una forma allungata.

Questa Dimastigameba (Fig. 4) ora si presenta tondeggiante, ora ovalare, ora piriforme, ora a sacco, emette a volta degli pseudopodi larghi, espansi, chiari, ben distinti dall'endoplasma, ed é fornita di un nucleo vescicoloso, grande 2—3 μ, a volte anche 4 μ, con un grosso cariosoma centrale. Il protoplasma é granuloso, contiene numerosi inclusioni e spesso presenta un vacuolo contrattile.

Le cisti sono tondeggianti, presentano il nucleo eccentrico, con un cariosoma centrale e misurano un diametro che si aggira per lo più intorno ai 10 μ; nel loro interno si notano alcune inclusioni rotondeggianti.

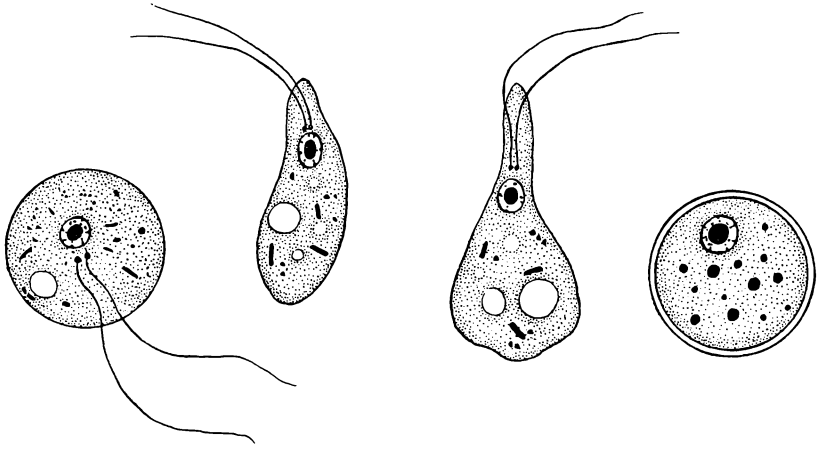

Fig. 4.

La forma vegetativa presenta due lunghi flagelli i quali si originano da due piccoli granuli di cromatina posti vicini al nucleo.

Dall'insieme di questi caratteri, facile ci é stato identificare questo Protozoo per una *Dimastigamoeba gruberi*.

Accanto a questa *Dimastigamoeba* ben nota, ne abbiamo spesso, riscontrata un'altra che aveva caratteristiche speciali e costanti tutte sue proprie.

Questa seconda *Dimastigamoeba* si colora non molto intensamente; noi, però, l'abbiamo potuta studiare bene impregnandola a fresco con inchiostro di Cina.

Essa si presentava (Fig. 5) vivacissima, emetteva continuamente pseudopodi allungati, a linguetta, rotondeggianti, abbastanza ben differenziati dal resto del protoplasma, e li emetteva a scatto, assumendo, l'un dopo l'altra, le forme più svariate: rotonda, ovalare, reniforme, a clessidra, a pera, a sacco e così via.

Munita di due flagelli abbastanza lunghi, questi non contribuiscono in nulla alla progressione del Protozoo. Non abbiamo potuto mai scorgere a fresco il nucleo, il quale, invece, si mette abbastanza bene in evidenza con le comuni colorazioni, presentandosi grande, vescicoloso, con un grosso cariosoma centrale. Con l'inchiostro di Cina, poi, abbiamo, potuto mettere bene in evidenza numerosi vacuoli — fino a 5 — tutti pulsanti: i granuli dell'inchiostro di Cina, infatti, roteavano continuamente nel loro interno.

Questa Dimastigameba, che presentava una netta differenzazione tra ecto ed endoplasma, misurava, lungo il suo asse maggiore, tra gli 8 e i 12 μ, mentre nel suo minore tra i 4 e i 7.

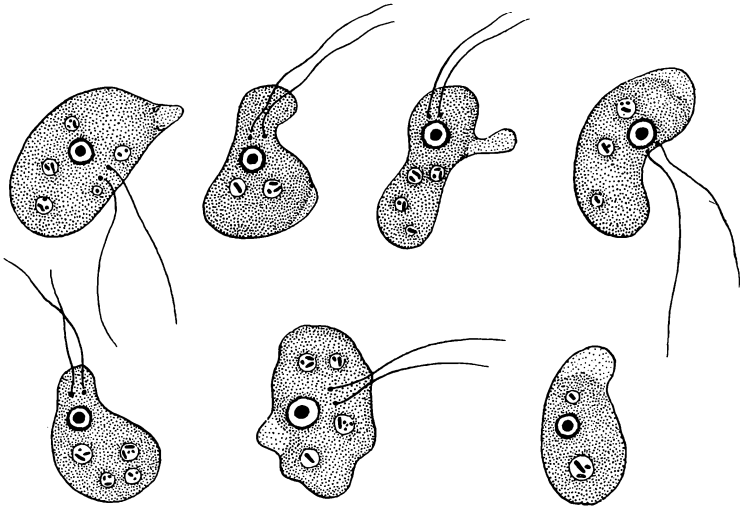

Fig. 5.

Non siamo mai riusciti a vedere nei preparati a fresco la forma Ameboide aflagellata di questa Dimastigameba. Solo alcune volte nei preparati colorati abbiamo potuto scorgere alcuni corpi piriformi muniti di un piccolo pseudopodo molto refrangente e nettamente distinto dall'endoplasma, con un nucleo che si colorava in modo intenso e con alcuni vacuoli tondeggianti. Questi corpi misuravano sugli 8—9 μ di lunghezza per i 4—5 μ di larghezza. Che si trattasse della forma Ameboide, aflagellata, della Dimastigameba or ora descritta? é quello che noi crediamo, dato che questi corpi li abbiamo veduti solamente nei preparati fatti da culture ricche di Dimastigamebe.

A quale specie assegnare questo Protozoo?

Per quello che riguarda il genere, é indiscutibile si trattasse di una *Dimastigamoeba*, giacché eravamo in presenza di un Protozoo che emetteva tipici pseudopodi per mezzo dei quali si moveva, mentre, nello stesso tempo, presentava due lunghi flagelli.

Era, dunque, senz'altro una *Dimastigamoeba*, ma quale?

Non certo una *D. gruberi*, giacché questa non presenta costantemente numerosi vacuoli, né emette così tipici pseudopodi; una *D. bistadialis*? nemmeno, giacché questa presenta un solo vacuolo pulsatile; una *D. soli*? neanche, giacché questa emette pseudopodi grandi, espansi oppure piccoli, ma contemporaneamente numerosi e disposti quasi come i petali di un fiore intorno all'endoplasma. mentre, poi, possiede, tutto al più un solo vacuolo; una *D. agilis*? no, perché questa presenta i due flagelli disposti ognuno a un estremo del corpo; una *D. simplex*? neanche e per la stessa ragione.

E allora? di Dimastigamebe non ci consta ne siano state descritte altre. Che si tratti di una specie nuova? Noi lo crediamo fermamente, dato che non abbiamo veduto mai descritte specie che abbiano tali caratteri: aspetto e movimenti ameboidi, emissione di pseudopodi a scatto, presenza di due flagelli diretti nello stesso senso, e di numerosi — quasi sempre cinque — vacuoli contrattili.

Nella, convinzione, dunque, che si tratti di una specie nuova, proponiamo per essa il nome di *Dimastigamoeba vacuolata* n. sp. (mihi).

Fam. *Rhizomastigidae*.

Della famiglia *Rhizomastigidae* abbiamo potuto vedere e studiare, nelle nostre culture, una sola specie, la quale si coltivava con relativa frequenza e facilità.

Si trattava di un piccolo Protozoo (Fig. 6) che misurava, nella sua forma rotondeggiante, solamente 5—6 μ di diametro. Esso era vivacissimo nei suoi movimenti; si può dire non stesse mai fermo, si moveva a scatti, emettendo pseudopodi globosi e variabilissimi di aspetto, tanto che infinite erano le forme che questo Protozoo assumeva: ora era perfettamente tondo, ora piriforme, ora a squadra, ora a triangolo, ora a semiluna, ora a foglia. Sempre in fase amoboidea, difficilmente emetteva il flagello, il quale, però, sia a fresco che nelle colorazioni, si vedeva benissimo nell'interno del protoplasma sotto forma di una linea centrale più scura, linea che scompariva quando il Protozoo dalla fase ameboide passava a quella flagellata; ciò che conferma con evidenza che quella linea doveva, appunto, rappresentare il flagello.

Nella sua fase ameboide, oltre a questa sottile linea centrale, che seguiva nelle sue flessioni i cambiamenti di forma del protoplasma, si metteva in evidenza un piccolo nucleo, munito di un cariosoma centrale ben colorabile e visibile anche a fresco, e un vacuolo che ora stava accanto al nucleo, ora all'estremo opposto. Il protoplasma era finemente granuloso e non presentava differenzazione alcuna tra endo ed ectoplasma.

Nella fase flagellata, il Protozoo seguitava ad emettere pseudopodi a scatto, a muoversi come nella fase ameboide e ad assumere

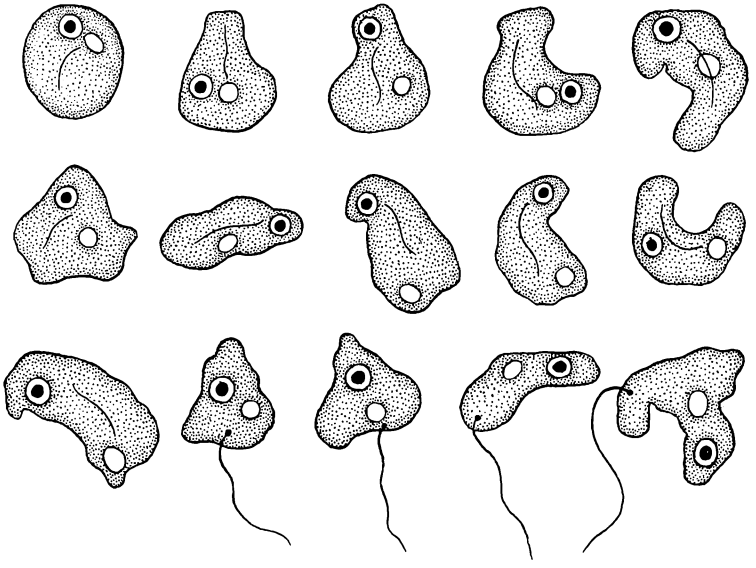

Fig. 6.

le stesse e differentissime forme; nell'interno del protoplasma, come già abbiamo detto, esso non presentava più la linea sopra descritta, mentre si notavano il nucleo, quasi sempre eccentrico e posto proprio ad un estremo del corpo, un vacuolo ed un evidentissimo piccolo granulo di cromatina, dal quale aveva origine il flagello, lungo 6—7 μ, flagello quasi immobile e che in nessunissima maniera serviva al movimento del Protozoo.

Considerando i dati che abbiamo or ora esposti, vediamo a quale genere della famiglia *Rhizomastigidae* si possa assegnare l'individuo da noi veduto.

Come é noto, nella famiglia *Rhizomastigidae* tre sono i generi esistenti: il genere *Mastigamoeba*, caratterizzato dall'avere un flagello

lungo almeno quanto il corpo del Protozoo, flagello proveniente dalla membrana nucleare: il genere *Mastigella*, caratterizzato dal fatto che il flagello non proviene dalla membrana nucleare; e il genere *Mastigina*, in cui il flagello, pur provenendo dalla membrana nucleare, é più corto della lunghezza del corpo del Protozoo.

L'individuo da noi veduto appartiene, quindi, indiscutibilmente — provenendo il flagello da un granulo di cromatina che nulla ha a che fare con la membrana nucleare del Protozoo — al genere *Mastigella*.

Ma di quale *Mastigella* si tratta? Le poche specie di questo genere fino ad oggi descritte sono tutte molto grandi: la più piccola, infatti, é la *M. commutans* che misura 20 μ di diametro; la più grande, la *M. vitrea*, che ne misura ben 150. La nostra, invece, é piccolissima: non misura, come abbiamo visto, che 5 o 6 μ, qualche volta persino 4! E se non é, per questa ragione, né la *M. commutans*, né la *M. vitrea*, non sarà nemmeno la *M. polymastix*, che misura 80 μ; né la *M. januarii*, che ne misura 40; né la *M. radicula*, che ne misura 65; né la *M. polyvacuolata*, che ne misura 35; né la *M. eilhardi*, che ne misura 80. E dato che queste sono tutte le *Mastigellae* fino ad oggi descritte, quella da noi veduta e studiata deve evidentemente appartenere a una nuova specie per la quale noi proponiamo il nome di *Mastigella parva* n. sp. (mihi).

Flagellati.

I flagellati che si coltivano dalle feci sono molti numerosi, e vari Osservatori ne hanno più volte descritte alcune specie, come, man mano vedremo nel corso della nostra esposizione.

I flagellati che noi abbiamo potuto mettere in evidenza nelle nostre culture appartengono tutti, seguendo la classificazione data dal WENYON (18), alla sottoclasse Zoomastigina, all'ordine Protomonadida e in particolare al sott'ordine Eumonadea.

Il sott'ordine Eumonadea si divide in numerose famiglie: dieci; di queste, la prima, *Monadidae*, é quella alla quale appartengono la quasi totalità dei Flagellati che si coltivano dalle feci umane.

Fam. *Monadidae*.

Nella famiglia *Monadidae* si ascrivono, com' é noto, quei Flagellati di semplice struttura con uno o più flagelli liberi, il cui assonema si origina da un blefaroblasto, che può trovarsi sia accollato alla membrana nucleare che distante da essa. Quando vi é più di un flagello, uno di questi può essere trascinato passivamente.

a) Monadidi monoflagellati.

Cominciamo, adesso, a considerare i Monadidi monoflagellati che noi abbiamo potuto studiare nelle nostre culture; essi sono quasi sempre individui molto piccoli di pochi micron di diametro e muniti di un nucleo di solito ben visibile a fresco e facilmente colorabile

Uno degli individui di questa famiglia più frequente a coltivarsi fu un piccolo Flagellato (Fig. 7) quasi sferico, del diametro del circa 5 μ e munito di un flagello un tantino più lungo del diametro del corpo, raggiungendo i 6 μ. Questo flagello si origina da un granulo di cromatina — situato nella parte opposta di dove sta il nucleo — segue, poi, per un quarto di giro, il margine del protoplasma e si libera da una lato di questo. Il protoplasma presenta quà e là alcune piccole granulazioni. Il nucleo, con un cariosoma centrale, é molto grande, vescicoloso, qualche volta appare reniforme, in questo caso é quasi sempre munito di due cariosomi, uno dei quali é fatto a stella: che si tratti in questo caso, di una fase di moltiplicazione?

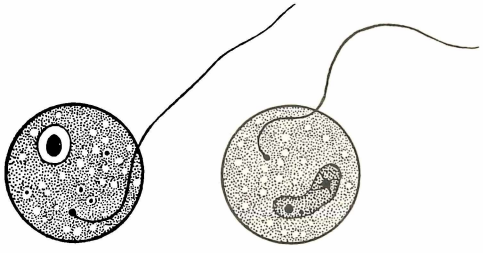

Fig. 7.

Probabilmente, questo individuo appartiene al genere *Oikomonas*: stabilire a quale specie é, però, un po' difficile, dato che non esistono ancora lavori sistematici e completi sulla morfologia esatta di questo genere e sulla specie che lo compongono; potrebbe darsi che la specie da noi vista sia identica a quella isolata da Yakimoff, Solowzoff e Wassilewsky (23) e da loro chiamata *Oikomonas granulata* e che considerarono erroneamente parassita, posto, poi, che questa *Oikomonas granulata* sia realmente una specie a sé e non identificabile con qualche altro *Oikomonas* già descritto, quale, ad esempio, l'*Oikomonas termo*.

Un altro Monoflagellato che abbiamo spesso rinvenuto nelle nostre culture, fu un piccolo individuo (Fig. 8) di aspetto vario: ora rotondeggiante, ora piriforme, ora a fagiuolo, e che si moveva facendo quasi dei salti; di un 7—8 μ di diametro nella sua fase rotondeggiante, di 9—10 μ di lunghezza nella sua fase allungata. Nell'interno del protoplasma si notavano costantemente alcuni grossi granuli refrangenti, i quali, di solito, si trovano riuniti nei pressi

del nucleo, dal lato opposto, però, da dove si origina il flagello. Il nucleo é sempre spinto verso un polo, é rotondo, vescicoloso, presenta un grosso cariosoma centrale; sulla membrana nucleare, verso l'estremità polare, si nota un granulo di cromatina dal quale si origina il flagello, che dopo poco diviene libero ed é lungo quanto o poco più l'asse maggiore del Protozoo. Abbiamo potuto osservare anche delle forme cistiche, perfettamente sferiche, con la membrana cistica spessa, con un nucleo tondo, vescicoloso, spinto da un lato e con il residuo del flagello inglobato nello spessore del protoplasma. Le cisti misurano intorno ai 7 μ di diametro.

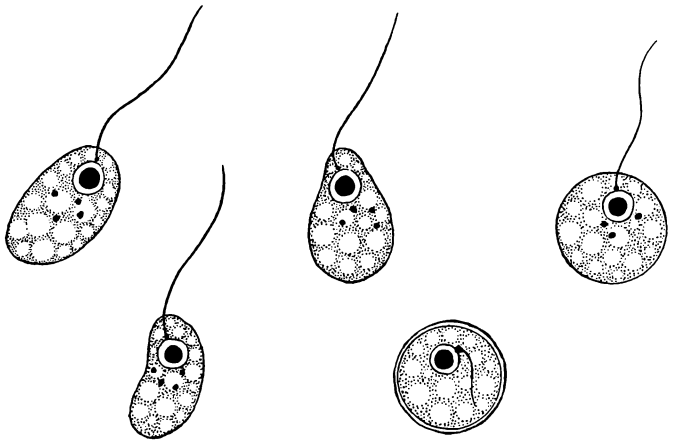

Fig. 8.

L'identificazione di questo Protozoo presenta qualche difficoltà; esso si rassomiglia molto a quello disegnato e indicato da KOFOID e SWEZY (9) sotto il nome di *Craigia migrans*, ma che, probabilmente, non era una *Craigia*, tanto più che questo genere, creato da BARLOW (1), é molto discutibile e si tende, oggi, a identificarlo con il genere *Oikomonas*, come anche il WENYON (18) crede. In ogni modo la specie da noi veduta si differenzia dalla *Craigia migrans* per il fatto che questa ha il protoplasma vacuolata, e che il flagello, pur provenendo dal nucleo, e particolarmente dal cariosoma, presenta un granulo cromatico nel punto marginale in cui diviene libera e non, come nel nostro, sulla membrana nucleare.

Ora, il Flagellato da noi visto si può realmente identificare con una specie del genere *Oikomonas?* Non sappiamo! ma non ci sembra esatto, dato che negli *Oikomonas* il flagello parte da nu blefaroblasto situato in pieno protoplasma e ben lontano dal nucleo;

mentre nella specie da noi veduta, il flagello si distacca da un granulo di cromatina nettamente addossato alla membrana nucleare, tanto che, invece di un granulo, a prima vista si potrebbe quasi prendere per un ispessimento della membrana stessa.

Non é nemmeno uno *Sphaeromonas* — genere molto vicino all'*Oikomonas* — dato che in quello il protoplasma é infarcito di grossi granuli e il flagello é lungo 4 o 5 volte il diametro del corpo; non é, poi, certamente, una *Craigia*, data che questa ha una fase Ameboide con forma simile all'*Entamoeba coli*.

Noi crediamo, quindi, si tratti di un genere nuovo al quale dovrebbe appartenere anche la specie vista da Kofoid e Swezy e da loro creduta una *Craigia migrans* e che il Wenyon, invece, vorrebbe fosse o un *Oikomonas* o uno *Sphaeromonas*.

A questo nuovo genere si potrebbe assegnare il nome di *Neomonas* e alla specie da noi veduta si potrebbe dare, per la sua agilità e vivacità, l'appellativo di *vivax* ed aversi così, un *Neomonas vivax* n. g., n. sp. (mihi), accanto al *Neomonas migrans* di Kofoid e Swezy.

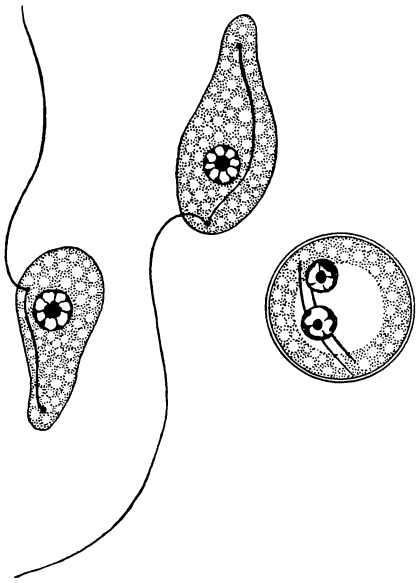

Fig. 9.

Tra i monoflagellati abbiamo spesso riscontrato nelle nostre culture un individuo di facile identificazione.

Si tratta di un Protozoo (Fig. 9) abbastanza grande piriforme di 10—12 μ di lunghezza, per 5—6 μ di larghezza, munito di un lungo flagello, che, partendo da un granulo di cromatina, posto verso l'estremità sottile del Protozoo, attraversa tutto il protoplasma, rimanendovi sempre accollato, e si libera, poi, dopo aver compiuto una leggera curva nella quale é situato il nucleo, da un altro granulo di cromatina situato sull'estremo più largo del Protozoo e a poca distanza dal margine. Il flagello, nel suo tratto libero, é lungo 20—22 μ.

Il nucleo, fatto a ruota, con cariosoma centrale, é situato, di solito, fra il terzo medio e il terzo inferiore del protoplasma finemente granuloso, senza vacuoli e senza inclusioni.

Abbiamo potuto osservare anche delle forme cistiche, binucleate con accenno a due flagelli; si trattava evidentemente di forme in moltiplicazione.

Questo flagellate lo abbiamo potuto facilmente identificare per un *Rhizomastix*.

Merita qui ricordare come YAKIMOFF e KOLPAKOFF (21) isolassero, nel 1921, da culture di feci umane, un *Rhizomastix*, che loro chiamarono *Pararhizomastix hominis*, senza precissare la ragione che li spinse a creare un nuovo genere; il quale secondo WENYON (18), non avrebbe ragione di esistere e si dovrebbe identificare con il *Rhizomastix* e la specie con l'*agilis*.

A noi sembra che il *Rhizomastix* da noi veduto si possa meglio identificare, specie per le sue dimensioni, con il *Rhizomastix gracilis;* e crediamo che anche il *Pararhizomastix hominis* di YAKIMOFF e KOLPAKOFF non fosse che un *Rhizomastix gracilis*.

Altri due piccoli Monoflagellati abbiamo potuto qualche volta osservare nelle nostre culture: il primo (Fig. 10) piriforme, largo 2—5 μ e lungo 3—3,5 μ, presenta un solo flagello abbastanza lungo, 4 μ, flagello che nasce dalla massa di cromatina posta quasi al centro

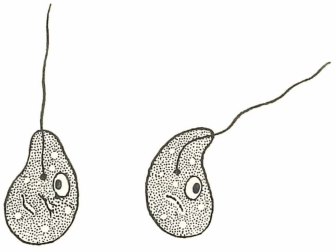

Fig. 10.

Fig. 11.

del protoplasma e si libera dall'estremo più sottile del corpo. Il nucleo é laterale e presenta un granulo di cromatina, il cariosoma, quasi addossato alla membrana nucleare. Il protoplasma é finemente granuloso, non presenta vacuoli, mentre presenta alcune inclusioni filiformi. Di questo piccolo Flagellato non abbiamo potuto riconoscere, e, quindi, studiare le formi cistiche.

Il secondo Protozoo di cui sopra, ancora piú piccolo del precedente, é (Fig. 11) di forma costantemente rotonda e misura un diametro di 2,5 μ, raramente di 3. Presenta un flagello non molto lungo, quanto il diametro del corpo, flagello che nasce non molto distante dalla periferia, da un granulo di cromatina fortemente colorabile e si libera da una piccola protuberanza, specie di micropilo. Il nucleo é piccolo, nettamente centrale, e presenta un cariosoma

pure centrale, e una membrana nucleare spessa, irregolare, con granuli di cromatina. Il protoplasma é finemente granuloso e presenta alcuni piccoli vacuoli tondeggianti.

Noi crediamo che questi due piccoli Protozoi si possano assegnare per le loro caratteristiche al genere *Oikomonas*; non ci sentiamo in grado, però, di fare una diagnosi specifica, giacché non abbiamo raccolti dati sufficienti per potere assegnare gli individui da noi veduti a questa o a quella specie, né, tanto meno, per azzardarsi di creare addirittura, cosa cho molto spesso si fa con imperdonabile leggerezza, nuove specie.

Di Monoflagellati, infine, ne ricorderemo altri due sui quali, però, minime sono state le osservazioni; di uno ne abbiamo veduti due soli esemplari a fresco; dell'altro, un solo esemplare in un preparato colorato.

Il primo individuo (Fig. 12 a) era piriforme, dotato di movimenti vivaci e decisi, munito, posteriormente, di un flagello lungo almeno tre volte l'asse maggiore del Protozoo. Poco distante dal punto di origine del flagello, si notava un corpo rotondeggiante e refrangente; quale ufficio o quale origine avesse questo corpo non abbiamo potuto stabilire; che si trattasse di un corpo attacca tosi accidentalmente al flagello? E' possibile, però, che ciò fosse avvenuto contempora neamente in due individui e nelle identiche assolute condizioni?

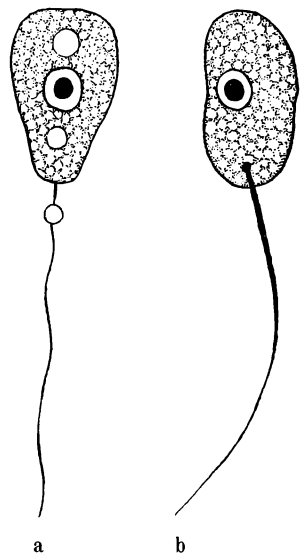

Fig. 12.

Questo flagellato presentava, poi, un nucleo centrale, visibile a fresco, e due vacuoli posti l'uno sopra e l'altro sotto al nucleo.

Le dimensioni di questo Protozoo erano di 6—7 μ lungo l'asse maggiore del corpo e di 3—4 μ nel minore.

Il secondo Protozoo (Fig. 12 b) veduto presentava la caratteristica di possedere un lunghissimo flagello di ben 15 μ, flagello il quale si originava da un blefaroblasto ben evidente e posto a un estremo del corpo; questo flagello presentava la base di impianto molto grossa per diventare all'estremo libero sottilissimo.

Questo individuo era di aspetto più o meno conico, aveva un nucleo eccentrico con cariosoma centrale, protoplasma finemente granuloso e misurava 5—6 μ di lunghezza per 3—4 μ di larghezza.

Dagli scarsi dati che abbiamo potuto raccogliere nella nostra osservazione, non si può davvero porre una diagnosi di specificità. Mentre per il primo di questi ultimi Protozoi ci riserviamo di porre anche una diagnosi di genere, per il secondo si potrebbe pensare di trovarsi dinnanzi a una specie del genere *Oikomonas*.

b) Monadidi biflagellati.

Passiamo ora a considerare i Monadidi biflagellati.

Diremo subito come questi siano i più facili a coltivarsi e quelli a comparire in maggior numero nelle culture.

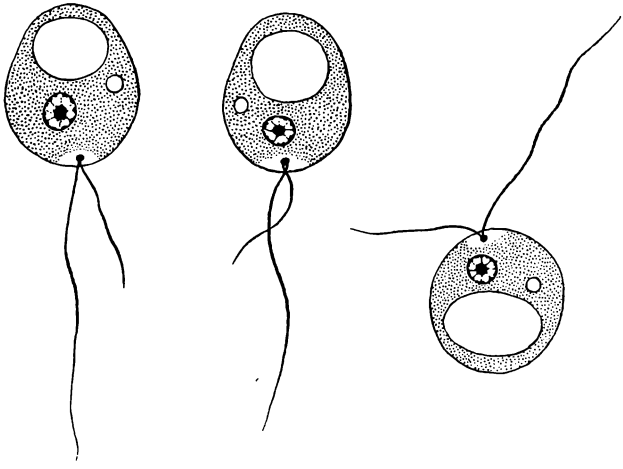

Fig. 13.

Tra questi Monadidi, uno dei più comuni fu senza dubbio un piccolo Protozoo (Fig. 13) di aspetto rotondeggiante o leggermente piriforme, del diametro di 6—7 μ e munito di due flagelli uno più corto, 6—7 μ, e l'altro più lungo, 14—15 μ, provenienti dallo stesso blefaroblasto, posto proprio sul margine del Protozoo, in una zona, però, refrangente e nettamente distinta dal resto del protoplasma finemente granuloso. Il nucleo, non molto grande, dista di poco dal blefaroblasto e si trova sempre tra questo e un grosso vacuolo pulsatile che occupa tutta l'estremità posteriore del Protozoo. E' inoltre, quasi sempre presente un altro piccolo vacuolo a pareti spesse e refrangenti.

Noi crediamo che non sia difficile identificare questo biflagellato per una specie del genere *Monas* e precisamente per la specie

Monas vulgaris con il quale ha numerosi caratteri, se non tutti, di perfetta identità.

Ricorderemo a proposito del *Monas vulgaris*, come esso sia già stato coltivato dalle feci umane de Yakimoff e Solowzoff (22) i quali ebbero, però, il torto di considerarlo come parassita. Il Wenyon (18), invece, crede che esso vada solamente a infestare le faci di già emesse; noi crediamo che per questo, come per gli altri Protozoi che fanno parte del presesente lavoro, il meccanismo di infestazione fecale sia sempre il medesimo: l'uomo ingerisce con gli alimenti i Protozoi allo stato sia cistico che vegetativo — fatto, questo, che noi crediamo più facile a verificarsi —, gli individui liberi giunti nell'organismo umano, ove trovano una temperatura molto elevata e un ambiente chimico sfavorevole al loro sviluppo, si incistano; le cisti emesse, poi. con le feci sono quelle che danno luogo ai Protozoi viventi e liberi che si rinvengono successivamente nelle culture.

Accante al *Monas vulgaris* abbiamo rinvenuto un altro piccolo biflagellato che si può considerare come quello che con maggior facilità e costanza compare nelle culture fecali e come quello che in esse é fra i primissimi a svilupparsi.

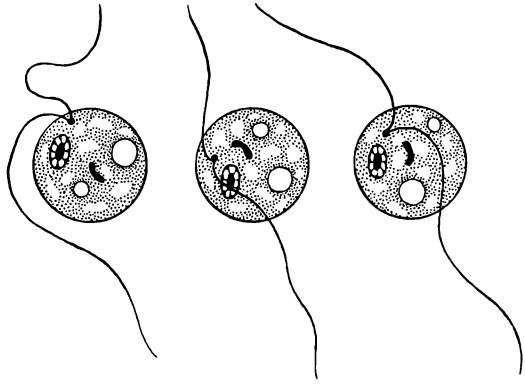

Fig. 14.

Si tratta, come dicevamo, di un piccolo flagellato (Fig. 14) perfettamente tondo e del diametro di 3,5 —4 μ, munito di due flagelli, tutti e due molto mobili, e provenienti dallo stesso blefaroblasto situato alla periferia del Protozoo, accanto al margine, poco lungi dal nucleo. I due flagelli si rendono immediatamente liberi e sono quasi sempre diretti in senso opposto; uno di essi é leggermente piú corto dell'altro, il quale, di solito, misura 8—9 μ. Il nucleo é elittico e presenta un cariosoma centrale, pute elittico. e una membrana nucleare spessa, fornita di granulazioni cromatiniche dalle quali partono sottilissimi filamenti che si vanno ad unire al cariosoma.

Nel protoplasma si notano alcuni piccoli vacuoli, alcune minuscole granulazioni e un piccolo corpo, senza forma determinata, che si mette bene in evidenza solamente con lo jodio. Con la colorazione eosina rossa-bleu di metilene, questo corpo si tinge leggermente in rosso.

La determinazione di questa specie presenta notevoli difficoltà: non solo per la determinazione della specie stessa, ma anche per quella del genere e, diremmo quasi, anche per quella della famiglia.

A prima vista, infatti, questo Protozoo si potrebbe facilmente prendere per un individuo della famiglia *Bodonidae*: presenta, infatti, due flagelli diretti in senso opposto, presenta un corpo speciale nel protoplasma; non presenta, però, alcun accenno di citostoma e quel corpo non é davvero un corpo parabasale, ma, semplicemente, un corpo iodofilo.

Noi crediamo che questa specie appartenga senz'altro alla famiglia *Monadidae*, ma a qual genere? Non al genere *Monas*, giacché la caratteristica di questo genere é quella di possedere un grosso vacuolo contrattile; non al genere *Heteromita*, giacché la specie di questo sono piriformi; non al genere *Spiromonas*, giacché in questi somo compresi individui allungati e ravvolti a spira, non al genere *Phyllomitus* giacché i due flagelli, che questo genere possiede, sono uniti da una membrana; e nemmeno, infine, al genere *Costia* giacché anche questo, oltre alle sue numerose altre particolari caratteristiche morfologiche e biologiche, ha aspetto piriforme. Non esistono altri generi biflagellati in questa famiglia.

Ci troviamo evidentemente, quindi, in presenza di un genere nuovo caratterizzato dall'avere due flagelli sottili, mobili, uno leggermente più corto dell'altro e proveniente dallo stesso blefaroblasto; dall'avere un nucleo elittico, e, nel protoplasma, un piccolo corpo iodofilo; il quale ultimo ci suggerisce il nome da dare a questo nuovo genere, quello, cioé, di *Jodomonas*; mentre per la specie proponiamo l'appellativo di *agilis*: *Jodomonas agilis* n. g., n. sp. (mihi).

Nelle nostre culture abbiamo incontrato un altro strano individno della famiglia *Monadidae*: si trattava di un biflagellato (Fig. 15) di aspetto leggermente piriforme, del diametro di 4—5 μ e munito di due flagelli: uno lungo il doppio dell'altro, il maggiore raggiungeva i 5 –7 μ.

Verso l'estremità appuntita del Protozoo abbiamo sempre notato due bastoncini di cromatina disposti ad angolo e con l'apice rivolto in fuori; sull'apice un granulo più refrangente e sull'estremo in-

feriore di uno dei due bastoncini un ispessimento bene evidente dal quale partivano i due flagelli. Il nucleo era grande e con la cromatina sparsa a blocchi nell'interno; non ci é stato mai possibile di riconoscere un cariosoma ben distinto.

Ci é occorso anche vedere una forma in accoppiamento: i due individui erano saldamente uniti fra loro, e nell'interno del protoplasma si notava un complicato intrecciarsi di rizostili, che univano fra loro i nuclei dei due individui, e lo strano apparato cromatinico angolare di cui più sopra abbiamo parlato.

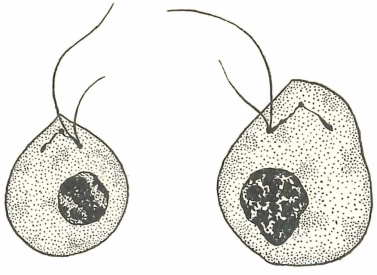

Fig. 15.

Anche per questo Protozoo una diagnosi di genere e di specie riesce difficile: potrebbe darsi che quanto al genere si tratti, per le caratteristiche or ora descritte, di un *Heteromita*, ma per la specie? Difficile é il poterla con esattezza stabilire, tanto più che potrebbe trattarsi di una specie nuova non ancora descritta; data la scarsezza, però, dei dati raccolti, non ci vogliamo pronunciare definitivamente in proposito.

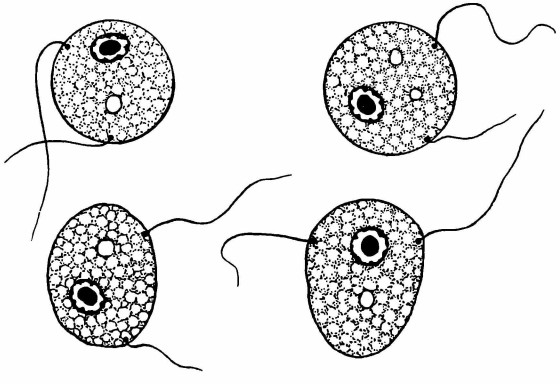

Fig. 16.

Fra i biflagellati ebbiamo avuto spesso occassione di notare un individuo (Fig. 16) di piccole dimensioni, 5 o 6 μ di diametro, di aspetto rotondeggiante o leggermente piriforme, munito di due flagelli provenienti da blefaroblasti diversi, situati, ognuno, presso il margine del Protozoo. Di questi due flagelli, diretti o in senso opposto, o nello stesso senso, o incrociantesi ad angolo retto, uno é maggiore dell'altro, misurando precisalmente il maggiore intorno agli 8 μ, e l'altro intorno ai 5 μ? Nel protoplasma si nota, per lo più eccentrico, un nucleo munito

di un cariosoma a limiti non ben distinti. Nel protoplasma finemente granuloso si mettono, poi, spesso in evidenza piccoli vacuoli.

Questo flagellato appartiene evidentemente, per l'insieme dei suoi caratteri, alla famiglia *Monadidae*; ma, per gli stessi suoi caratteri non ci sembra si possa assegnare a nessuno dei generi biflagellati della famiglia stessa, in quantocché in questi generi i flagelli provengono sempre dallo stesso blefaroblasto.

E siccome il provenire dei flagelli da blefaroblasti diversi ci sembra un carattere ben netto e tale da poter essere la caratteristica di un genere a sé, crediamo fermamente di trovarci anche questa volta in presenza di un genere nuovo e, quindi, anche di una specie nuova: per la quale proponiamo il nome di *Diblepharomonas stercoralis*, n. g., n. sp. (mihi).

Nel gruppo dei *Monadidae* a due flagelli dobbiamo ancora ricordare tre individui, rinvenuti qualche rarissima volta nelle nostre culture.

Il primo di questi individui (Fig. 17 a) é quasi elittico, non molto grande, 5×6 μ, ed é munito di un flagello cortissimo e di uno abbastanza lungo, 8—9 μ, provenienti ambedue dallo stesso blefaroblasto nettamente accollato al nucleo, il quale presenta un piccolo cariosoma eccentrico. Il protoplasma é finemente granuloso, non presenta inclusioni né vacuoli.

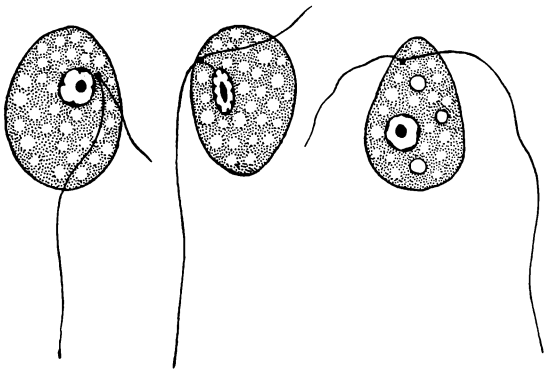

Fig. 17.

Il secondo di questi Protozoi (Fig. 17 b) é ovalare, e misura, nel suo diametro maggiore, intorno ai 5 μ. I due flagelli provengono da uno stesso granulo di cromatina, nettamente periferico, quasi marginale: il blefaroblasto, il quale, per mezzo di un rizostile, é unito al nucleo eccentrico, elittico e con un cariosoma allungato ed unito da sottili filamenti cromatinici alla membrana nucleare. Il protoplasma é finemente granuloso e non presenta anch'esso né inclusioni né vacuoli.

Il terzo, infine, di questi *Monadidae* é un Protozoo piriforme (Fig. 17 c) delle stesse dimensioni del precedente, munito di due flagelli provenienti da un blefaroblasto situato nell'estremo appuntito del Protozoo; questi due flagelli misurano: l'uno 8 μ, l'altro 12 μ; il minore dei due é piú grosso e più flessuoso, l'altro, durante i movimenti, é quasi trascinato. Il nucleo é situato nella parte più larga del protoplasma ed ha un piccolo cariosoma centrale. Il protoplasma é finemente granuloso e presenta numerosi piccoli vacuoli sparsi.

Porre una diagnosi specifica su questi tre individui é cosa un po' difficile tanto più che noi non abbiamo potuto osservarse che pochi esemplari. Certamente tutti e tre appartengono al gruppo dei biflagellati della famiglia *Monadidae;* ma a qual genere? a nessuno di quelli più comunemente noti; più sopra abbiamo giá ricordato i caratteri di questi generi, e confrontando questi caratteri con quelli degli individui da noi or ora descritti se ne vedranno facilmente le differenze.

Vogliamo con ciò senz'altro dire che si tratti di generi nuovi? no, perché non ci sentiamo autorizzati di pronunciarci in proposito, giacché le osservazioni fatte sono state troppo scarse per potere con una certa sicurezza affermare o escludere senz'altro trattarsi di generi o specie nuove.

c) Monadidi triflagellati.

Di Monadidi a tre flagelli ne abbiamo veduti, nelle nostre culture, solamente due: uno piuttosto piccolo e un altro abbastanza grande.

Il minore dei due (Fig. 18) si é presentato sempre perfettamente sferico e di 4 o 5 μ di diametro, munito appunto di tre flagelli provenienti tutti dallo stesso blefaroblasto periferico, quasi marginale e di dimensioni notevoli; dei tre flagelli — tutti attivamente mobili e tutti diretti nello stesso senso — uno é minore degli altri due, misurando esso, infatti, solamente 4 μ, accanto ai 9 che ne misurano gli altri due. Il protoplasma di questo Protozoo si presenta vacuolare, grossolanamente granuloso, e contenente un nucleo, costantemente periferico, tondeggiante, vescicoloso e munito di un cariosoma centrale nettamente distinto.

Questo triflagellato rassomiglia notevolmente all'*Enteromonas hominis* descritto dal Fonseca (6), nel 1915, in una donna brasiliana; se ne discosta, però, per il solo fatto che l'*Enteromonas hominis*

avrebbe due flagelli corti e uno lungo, mentre nella nostra specie avviene il contrario: ve ne é uno corto e due lunghi.

Che si tratti, quindi, del genere *Enteromonas*, ma di una specie diversa dall'*Enteromonas hominis?*

Questo potrebbe essere convalidato anche dal fatto che l'*Enteromonas hominis*, stando sempre a quel che ne dice il DA FONSECA, sarebbe un Protozoo capace di vivere allo stato vegetativo nell'intestino dell'uomo, mentre la specie da noi veduta era sicuramente una specie appartenente al gruppo dei Protozoi coprofili.

D'altro lato, il genere *Enteromonas* del DA FONSECA è realmente un genere a sé? Il WENYON (18) ne dubita, e vorrebbe fosse da identificarsi con il genere *Chilomastix*.

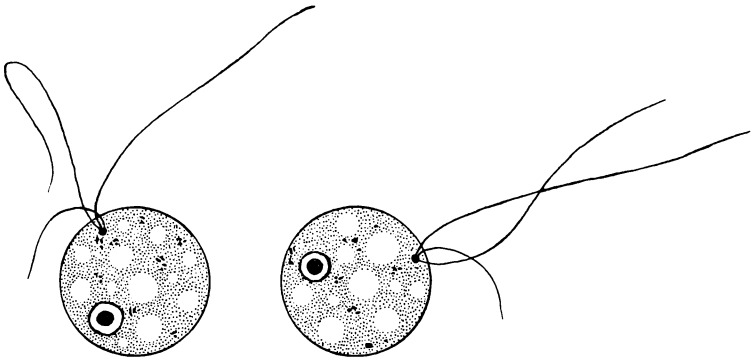

Fig. 18.

Il nostro individuo non era sicuramente un *Chilomastix*: non avendo esso presentato anche il minimo accenno di citostoma; non possiamo, poi, pensare che si trattasse di una delle piccole forme atipiche di *Chilomastix* descritte dal WENYON (18), e ciò per più ragioni: prima, perché il *Chilomastix* é un vero parassita intestinale e non si sviluppa nelle comuni culture per Protozoi coprofili; poi, perché se si fosse frattato di *Chilomastix*, avremmo certamente trovato, accanto alle forme minute e atipiche, delle formi grandi e di aspetto classico, cosa che, invece, non ci fu mai dato di vedere; come mai vedemmo le tipiche cisti del *Chilomastix*.

Per concludere, noi crediamo si tratti di un genere molto simile al genere *Enteromonas*, se non addirittura dello stesso *Enteromonas* — genere che noi crediamo esatto, giacché più volte abbiamo avuto occasione di vedere nelle feci umane degli *Enteromonas hominis* —, Quanto alla specie, considerazioni di ordine biologico e morfologico,

ci fanno escludere, come più sopra abbiamo detto, che si tratti della specie *Enteromonas hominis*, per cui, di conseguenza, noi crediamo di trovarci di fronte a una specie nuova del genere *Enteromonas*, per la quale proponiamo il nome di *Enteromonas foecalis*, n. sp. (mihi).

L'altro *Monadidae* triflagellato, giunto alla nostra osservazione, fu un Protozoo piuttosto grande (Fig. 19), di aspetto reniforme e misurante intorno ai 12 μ, nel suo asse maggiore, e intorno ai 5 μ, nel suo minore.

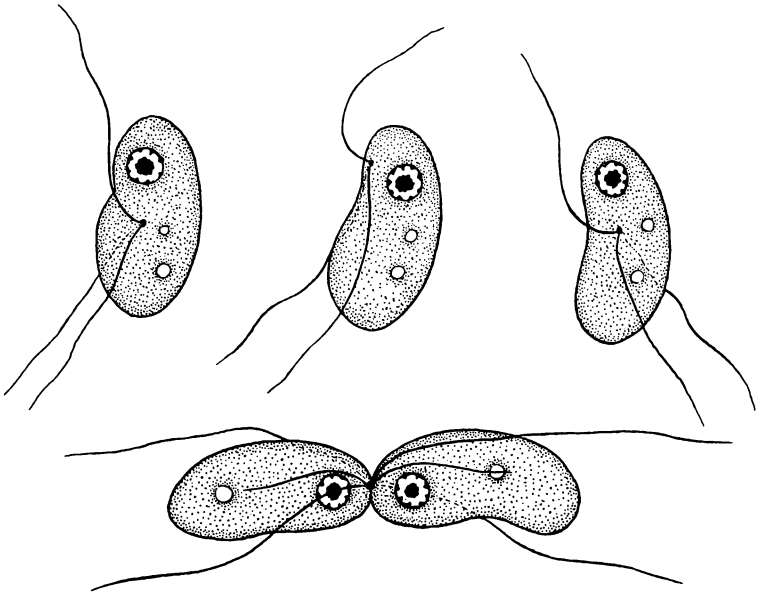

Fig. 19.

Questa specie é stata una delle più costanti a coltivarsi e una delle più frequenti a incontrarsi nelle nostre culture. Come dicevamo, questo individuo é di aspetto reniforme e presenta tre flagelli che provengono tutti dallo stesso blefaroblasto posto, di solito, nel centro del protoplasma. Di questi flagelli uno si dirige verso l'alto, dove sta il nucleo, gli altri due, invece, si dirigono in basso e presentano la caratteristica di liberarsi ognuno da una delle due facce opposte del protoplasma, di modo che essi sono separati l'un dall'altro dall'intero corpo del Protozoo. I flagelli misurano intorno ai 15 μ di lunghezza: quello rivolto verso l'alto é, però, un tantino più corto degli altri due.

Il nucleo di questo Protozoo é piuttosto piccolo, rotondeggiante, vescicoloso, situato sempre ad un estremo del corpo, presenta alla periferia una serie di granuli ben distinti e al centro un piccolo cariosoma che é unito, per mezzo di sottili filamenti cromatinici, ai granuli periferici, sì che il nucleo viene ad assumere il classico aspetto di ruota.

Il protoplasma, trasparente, presenta spesso minute inclusioni e qualche piccolo vacuolo.

Qualche volta questo Protozoo, che nei suoi movimenti é vivacissimo, appare improvvisamente all'occhio dell'osservatore perfettamente tondo: ciò dipende dal fatto che lo si osserva da un vertice.

Ma ciò che nella biologia di questo flagellato é molto interessante, é il fatto della facilità e frequenza con cui esso si osserva in coniugazione.

Due individui si avvicinano, si uniscono per un estremo, mentre il blefaroblasto di ognuno diviene nettamente polare, per poi, i due blefaroblasti, fondersi insieme. Allora cominciano una serie di attivissimi movimenti da parte dei due individui accoppiati: sono, di solito, movimenti di va e vieni, quasi a sega; di tratto in tratto, poi, un individuo si ferma e solamente l'altro seguita a muoversi attivamente. Quando sono in accoppiamento, può capitare di vedere i due Protozoi sotto aspetti diversi: ora si osservano ambedue di lato, estesi e, quindi, di aspetto reniforme; ora sono riuniti ambedue per un polo: tutti e due, quindi, tondeggianti; ora uno é visto di lato e l'altro per un polo, di modo che se ne vede uno reniforme e l'altro tondeggiante.

Durante l'accoppiamento, i nuclei si seguitano ad osservare bene e così pure i flagelli; e, sempre durante l'accoppiamento, il movimento protoplasmatico sembra dovuto più a contrazioni proprie che all'azione dei flagelli, i quali perdono molto della loro agilità.

Volendo classificare questo Protozoo, non sapremmo a quale genere conosciuto assegnarlo. Indubbiamente, secondo noi, si tratta di un *Monadidae*, e ciò per la sua semplice struttura, per la costante assenza del citostoma, per il fatto che i flagelli sono tre, il che esclude senz'altro si possa trattare di *Bodonidae*, di *Prowazekellidae*, di *Embadomonadidae*, di *Chilomastigidae* e di *Cryptobiidae*, giacché la caratteristica di tutte queste famiglie é quella di possedere due o quattro flagelli; non é, poi, un *Cercomonadidae*, in quanto che i Cercomonadi hanno uno dei loro flagelli aderente alla superficie del corpo, ed hanno, inoltre, il blefaroblasto addossato alla membrana nucleare; non é, poi, un *Trichomonadidae*, in quanto che il nostro

non possiede membrana ondulante: non é, infine, il caso di parlare della famiglia di *Dinenymphidae*, in quanto che questa comprende individui con molti flagelli e i cui assonemi si attaccano al margine di una serie di membrane ondulanti.

Non resta, quindi, che la famiglia *Monadidae*, alla quale la nostra specie deve sicuramente appartenere per le caratteristiche che essa presenta.

Non vediamo, però, a quale genere conosciuto possa essere assegnato questo individuo, il quale, come abbiamo ben visto, ha caratteristiche sue proprie così spiccate e così differenti dagli altri generi fin'ora descritti che ci sentiamo autorizzati ad ammettere di trovarci in presenza di un genere nuovo e di una nuova specie, che per il suo aspetto e per il suo habitat chiameremo *Stercomonas nephromorphus* n. g., n. sp. (mihi).

d) Monadidi tetraflagellati.

Di Protozoi tetraflagellati appartenente sicuramente alla famiglia Monadidae ne abbiamo veduto solamente uno.

Si tratta di un individuo di aspetto sferico (Fig. 20), munito di due flagelli lunghi e di due corti sorgenti tutti dallo stesso blefaroblasto marginale e diametralmente opposto al nucleo.

Le dimensioni di questo Protozoo sono minime: esse si aggirano infatti tra i 4 e i 5 μ di diametro, i flagelli maggiori raggiungono i 7—8 μ di lunghezza e i minori non superano i 3.

Il movimento é dato si può dire, esclusivamente dai due flagelli maggiori, i due più piccoli, infatti, sono poco flessibili e sembrano deputati più alla direzione che al movimento.

Il nucleo di questi Flagellati é piccolo, tondeggiante, vescicoloso, munito di una evidente membrana nucleare — priva di granuli — e di un cariosoma centrale.

Il protoplasma é finemente granuloso e presenta numerose inclusioni e vari piccoli vacuoli.

A quale genere assegnare questo Protozoo? Esso rassomiglia moltissimo a una fase di sviluppo della *Costia necatrix* e precisamente alla fase di moltiplicazione, quando la *Costia necatrix*, che normalmente presenta due flagelli, ne mostra quattro: due brevi e due lunghi; e ciò per quanto ha descritto e designato il Moroff (10); ma ove si pensi che la *Costia necatrix* é un Protozoo marino, parassita della pelle dei pesci, facile sarà arguire come il nostro *Monadidae* non abbia nulla a che fare con la *Costia* stessa, tanto più che esso non sembra davvero trovarsi in fase di moltiplicazione,

giacché nelle nostre culture lo abbiamo sempre e spessissimo veduto così come lo abbiamo descritto senza che ci mostrasse alcun dato di fatto, alcun segno, che ci facesse solamente sospettare di trovarci in presenza di un Protozoo in via di moltiplicazione.

L'individuo da noi osservato appartiene, secondo noi, a un genere ben distinto, genere caratterizzato dal possedere individui con quattro flagelli due dei quali sono lunghi e molto mobili e due brevi e quasi rigidi, flagelli provenienti da un blefaroblasto marginale situato diametralmente opposto al nucleo, piccolo, tondo, vescicoloso, con membrana nucleare sprovvista di granuli e cariosoma centrale.

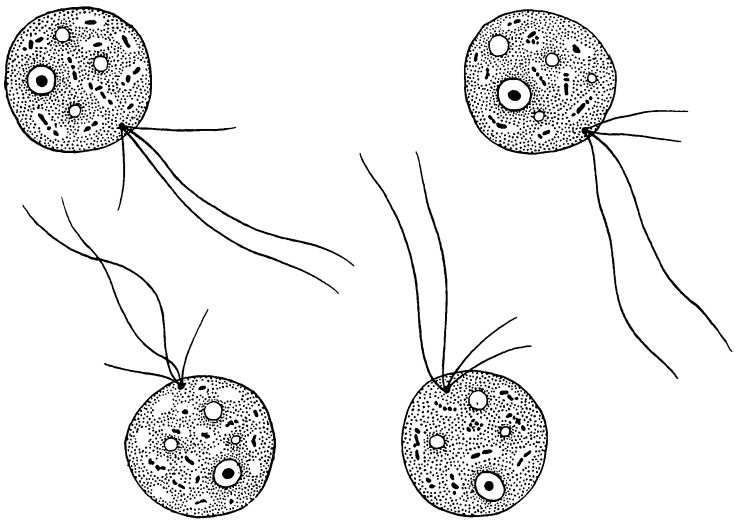

Fig. 20.

Non essendo stato fino ad oggi descritto nessun genere che abbia tali ben precise caratteristiche, crediamo senz'altro trovarci, anche in questo caso, dinnanzi a un nuovo genere e a una nuova specie, per i quali proponiamo il nome di *Diplomonas minutus* n. g., n. sp. (mihi).

Fin qui i flagellati della famiglia *Monadidae*: delle altre famiglie, ben pochi sono stati gli esemplari coltivati, uno della famiglia *Bodonidae* e uno della famiglia *Cercomonadidae*.

Fam. *Bodonidae*.

Della famiglia *Bodonidae* abbiamo spessissimo, quasi costantemente, veduto, nelle nostre culture, un individuo (Fig. 21) ora allungato, piriforme, ora più o meno tondeggiante e munito di due

flagelli: uno corto, diretto verso l'alto, e uno molto lungo diretto verso il basso e che il Protozoo trascina passivamente dietro a sé. Detti flagelli provengono da un blefaroblasto unico situato accanto a una piccola apertura citostomale. Non lontano dal blefaroblasto abbiamo sempre notato un corpo fortemente colorabile. Il nucleo é situato verso l'estremità posteriore del corpo del Protozoo ed é non costante nella forma, presentandosi ora tondeggiante, ora leggermente elittico, e munito di un cariosoma centrale.

Il protoplasma é vacuolare e presenta numerose inclusioni.

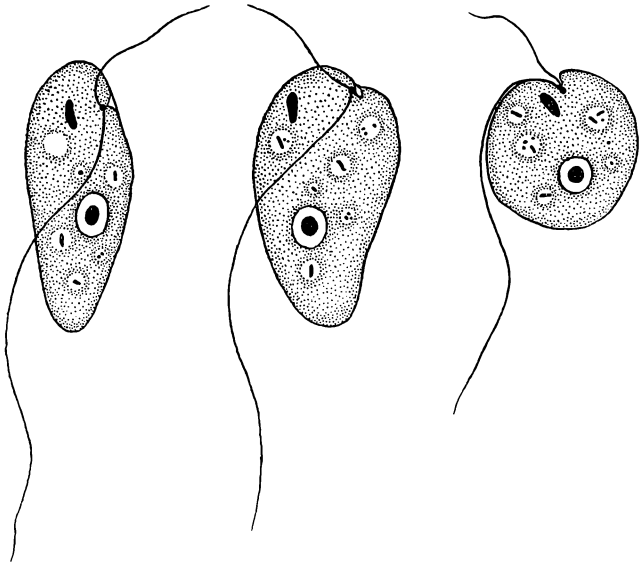

Fig. 21.

Questo flagellato non presenta una grandezza costante, ora misura in alcuni esemplari 8—9 μ di lunghezza, specie nelle forme piuttosto tondeggianti, ora può arrivare anche intorno ai 15—16 e persino 17 μ!

Il flagello anteriore é lungo, di solito, quanto la metà della lunghezza del Protozoo; quello posteriore, invece, é lungo circa il doppio della stessa lunghezza.

Dai suddescritti caratteri, facile ci é stato identificare il flagellato in questione per un *Bodo caudatus*.

Nelle nostre culture non abbiamo mai incontrato il *Bodo edax*, né altri generi di *Bodonidi*, quali il *Toxobodo* e il *Pirobodo* descritti

dal SANGIORGI (13—14), i quali due ultimi generi, però, non sono stati accettati, come é noto, dalla maggioranza degli Autori.

Famiglia *Cercomonadidae*.

Della famiglia *Cercomonadidae* abbiamo un paio di volte incontrato nelle nostre culture un piccolo esemplare (Fig. 22) caratterizzato dall'essere molto allungato, quasi a racchetta, munito di due flagelli, uno cortissimo e l'altro molto lungo e accollato al protoplasma del Protozoo per tutta la lunghezza di questo. I flagelli, infatti, nascono da un blefaroblasto posto all'estremo allargato del Protozoo; il minore si libera subito, mentre l'altro, dopo aver attraversato tutto il protoplasma, si libera dall'estremo opposto. Il nucleo piccolo vescicoloso, tondeggiante, munito di un cariosoma centrale e privo di granuli periferici, si trova ad un estremo del protoplasma, a ddossato quasi al blefaroblasto.

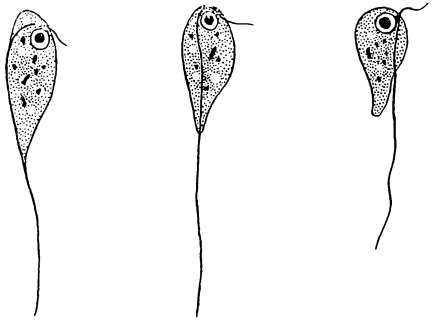

Fig. 22.

Il protoplasma presenta dei vacuoli e numerosi inclusioni.

Come dicevamo, si tratta di un piccolo Protozoo, le cui dimensioni, infatti, si aggirano interno ai 4—5 μ lungo l'asse maggiore.

Noi crediamo che dagli ora esposti caratteri si possa individuare questo Cercomonidae per una specie del genere *Helkesimastix* e precisamente per l'*Helkesimastix foecicola* descritta per la prima volta da WOODCOCK e LAPAGE nel 1915 (20).

Malgrado le ricerche attente da noi fatte non ci fu mai pissibile scorgere nelle nostre culture altri esemplari di Cercomonadidi quali il *Cercomanos longicauda* o il *Cercomanos crassicauda*.

Discussione.

Considerando, ora, le nostre ricerche nel loro insieme, quale significato dobbiamo noi dare a tutti questi Protozoi?

Abbiamo detto e veduto come essi si coltivano facilmente e come nelle culture compaiano quasi sempre gli stessi generi e le

stesse specie, come se esistesse uno speciale gruppo di Protozoi, composto di un determinato numero di individui, che solo fosse capace a passare integro attraverso l'intestino umano e a potere, quindi, essere coltivato dalle feci.

Questi Protozoi, che furono detti coprofili per l'ambiente in cui furono trovati, quale significato hanno per l'uomo che, per un certo periodo della loro vita, li ospita?

Noi non crediamo che essi abbiano un significato fisiologico, simile a quello che si attribuisce ai batteri intestinali, né tanto meno crediamo che essi abbiano alcuna importanza o significato d'ordine patologico.

Data, però, la costante presenza di questi Protozoi nelle feci umane, e data ancora la costanza dei generi e delle specie che vi si rinvengono, considerando, inoltre, che questi Protozoi fecali vengono sicuramente emessi dall'uomo insieme alle feci, si deve, in un certo qual modo, ammettere che esistano dei Protozoi, e solamente alcuni determinati, che possano sopravvivere all'azione deleteria dei succhi intestinali e resistere all'alta temperatura del corpo umano. Abbiamo detto "solamente alcuni determinati", giacché con l'alimentazione: l'acqua, il latte, le verdura e le frutta crude, si ingeriscono una quantità notevolissima di Protozoi di ogni genere che, poi, nelle feci non si rinvengono più, salvo quei pochi di cui abbiamo parlato nel presente studio, il che significa che i Protozoi ingeriti con l'alimentazione vengono, nella loro maggioranza, distrutti dai succhi intestinali e digeriti.

Ora, quei pochi Protozoi, che, invece, resistono all'azione dei succhi intestinali e all'alta temperatura del corpo, vengono a costituire un vero e proprio gruppo di Protozoi capaci, per un periodo più o meno lungo di tempo, di vivere allo stato cistico nell'intestino umano.

Dimostrato questo, non ci sembra azzardato si possa addirittura parlare di una Microfauna intestinale, microfauna di passaggio e di origine alimentare, microfauna vivente nell'organismo umano allo stato cistico, microfauna specifica per l'uomo, giacché da ricerche fatte su altri animali a sangue caldo e a sangue freddo — cane, gatto, coniglio, cavia, topo, rospo — abbiamo, nelle culture delle loro feci, trovato sempre altre qualità di Protozoi, i quali si sono, in un certo qual modo, rivelati specifici per ogni specie animale, tanto che si potrebbe parlare di una microfauna intestinale — intesa nel senso di cui sopra — proprio dell'uomo, in una propria del cane, in una del gatto, del coniglio, della cavia, del rospo e così via.

Col tempo e con l'aumentare degli studi su questo importante argomento fino ad oggi del tutto trascurato, si potrà con maggiore esattezza studiare il vero significato di questa Microfauna intestinale e stabilire se questi Protozoi hanno una qualche importanza e significato per l'uomo o l'animale che li ospita, oppure se il passaggio attraverso l'intestino umano o di altro animale si debba considerare come una necessità per il proseguimento della loro vita; e ciò per il fatto che noi siamo dell'avviso che in Biologia ogni constatazione di realtà ha la sua importanza e il suo significato, e che ogni manifestazione di Natura non é mai il frutto del caso, ma é sempre la conseguenza logica di una assoluta ragione di essere.

Bibliografia.

1) BARLOW, N. (1915): Craigiasis. Am. Journ. Trop. Dis. and Prev. Med. Vol. 2 p. 680.
2) CASAGRANDI, O. e BARBAGALLO, P. (1895): Ricerche biologiche e cliniche sull'Ameba coli. Bull. Acc. Gioenia Sci. Nat. Vol. 34 p. 4 e Vol. 41 p. 7.
3) — (1897): Entamoeba hominis, s. Amoeba coli. Studio biologico e clinico. Annali d'Igiene Vol. 7 p. 103.
4) CELLI, A. e FIOCCA, R. (1894): Beiträge zur Amöbenforschung. I u. II. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 15 p. 470 e Bd. 16 p. 329.
5) — (1895): Über die Ätiologie der Dysenterie. Ibid. Bd. 17 p. 309.
6) DAFONSECA, O. (1915): Sobre os flagellados dos Mamiferos do Brazil. Um novo parasito do homen. Brazil Med. Vol. 29 p. 281.
7) DOBELL, C. e O'CONNOR, F. (1921): The intestinal Protozoa of Man. p. 172. London.
8) KARTULIS, S. (1891): Einiges über die Pathogenese der Dysenterieamöben. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 9 p. 365.
9) KOFOID, C. e SWEZY, O. (1921): The flagellate infections of the human digestive tract. NELSON's Loose Leaf Encyclop. Living Med. Vol. 5 p. 365.
10) MOROFF, T. (1903): Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 p. 69.
11) MUSGRAVE, W. e CLEGG, M. (1904): Amebas: their cultivation and aetiologie significance. Dept. Interior, Bureau Gov. Lab. Biol., Lab. Bull. No. 18, Parte I p. 1. Manila.
12) MUSGRAVE, W. e CLEGG, M. (1906): The cultivation and pathogenesis of Amoebae. Philippine Journ. Sci. Vol. 1 p. 909.
13) SANGIORGI, G. (1917): Flagellati dell'intestino umano. Pathologica Vol. 9 p. 193.
14) — (1922): Di un flagellato dell'intestino umano. Ibid. Vol. 14 p. 493.
15) WALKER, E. e SELLARDS, A. (1913): Experimental entamoebic dysentery Philippine Journ. Sci. Vol. 8 p. 253.
16) WARD, H. e WHIPPLE, G. (1918): Fresh-water biology. p. 220. New-York.

17) Wenyon, C. (1907): Observations on the Protozoa in the intestine of mice. Arch. f. Protistenk. Suppl. 1 (Festschr. f. R. Hertwig) Bd. 169.
18) — (1926): Protozoology. p. 174, 291, 297, 298, 307, 623. London.
19) Whitmore, E. (1911): Studien über Kulturamöben aus Manila. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 81.
20) Woodcock, H. e Lapage, G. (1915): Observations on the life-cycle of a new flagellate: Helkesimastix faecicola n. g., n. sp. Proc. Roy. Soc. Vol. 88 p. 353.
21) Yakimoff, W. e Kolpakoff, E. (1921): Les colites de l'homme dues aux Protozoaires. Bull. Soc. Path. Exot. Vol. 14 p. 548.
22) Yakimoff, W. e Solowzoff, A. (1921): Monas sp. dans les selles de l'homme. Bull. Soc. Path. Exot. Vol. 14 p. 557.
23) — (1921): Oikomonas granulata n. sp. parasite de l'intestin de l'homme. Bull. Soc. Path. Exot. Vol. 14 p. 546.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1932

Band/Volume: 76_1932

Autor(en)/Author(s): Penso G.

Artikel/Article: Sui Protozoi coltiyati dalle feci umane normali. 83-117