



RICERCHE SPERIMENTALI SUL POLIMORFISMO  
DELLA CASTELLANELLA GAMBIENSIS

A. CASTELLANI — I. JACONO

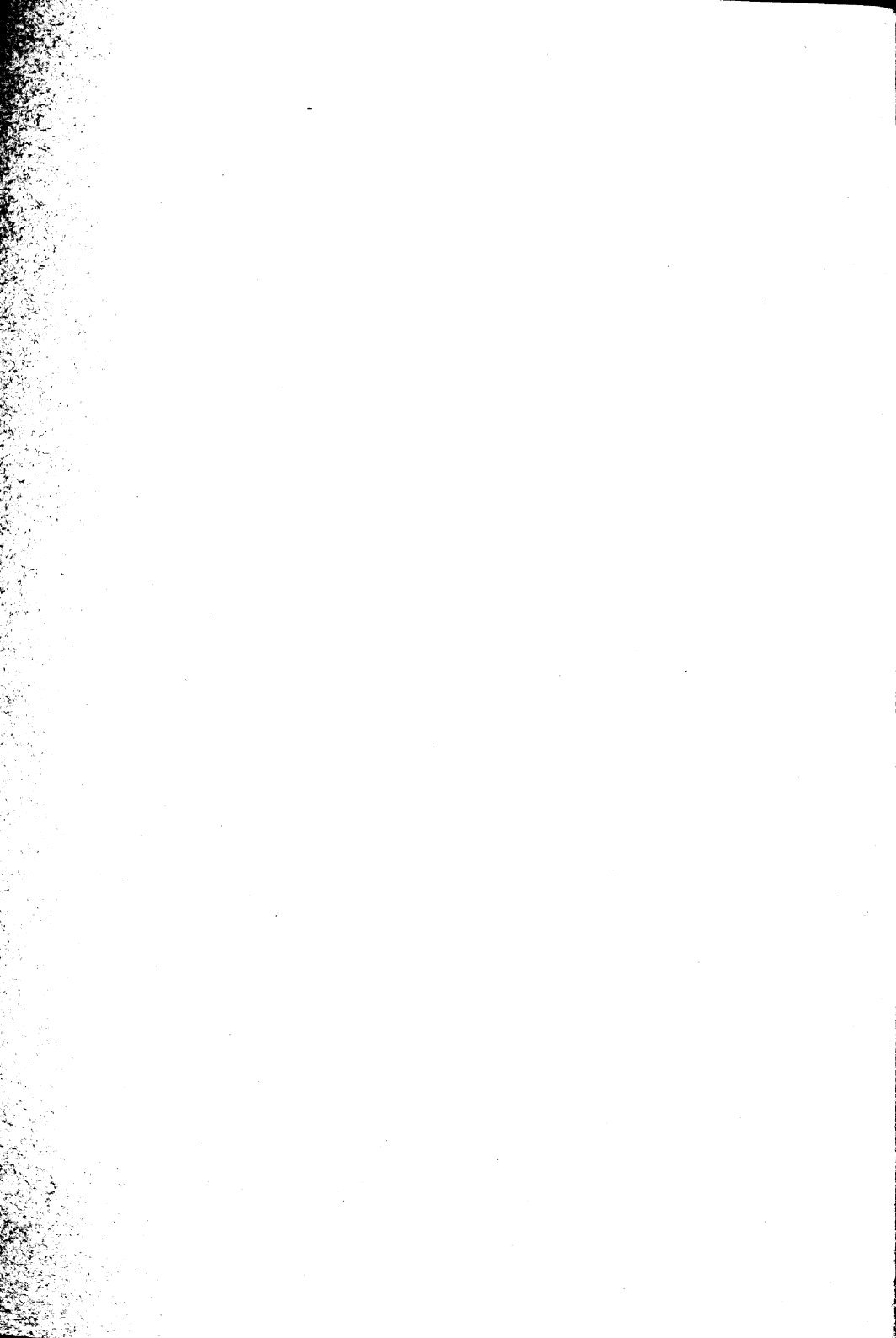


*Man*  
*582*  

---

*7*

Estratto dalla RIVISTA DI PARASSITOLOGIA  
Vol. I - N. 3 - Luglio 1937-XV



## RICERCHE SPERIMENTALI SUL POLIMORFISMO DELLA *CASTELLANELLA GAMBIENSIS*

per i

PROF. A. CASTELLANI

PROF. I. JACONO

Direttore

Aiuto

*Clinica delle malattie tropicali e subtropicali della R. Università di Roma  
diretta dal Sen. Prof. Aldo Castellani, Conte di Chisimaino.*

Premettiamo che la nomenclatura del genere *Castellanella*, da noi seguita, è stata proposta dallo CHALMERS e modificata da JACONO.

Partendo da considerazioni soprattutto biologiche, CHALMERS nel 1918 propose una nuova classificazione dei tripanosomi, ammettendo vari generi (*Trypanosoma*, *Cystotrypanosoma*, *Levisonella*, *Duttonella*, *Schizotrypanum*, ecc.) e differenziando nettamente il genere *Trypanosoma* dagli altri.

JACONO riprendendo lo studio dello CHALMERS ha differenziato il genere *Trypanosoma* in due generi: 1° genere *Trypanosoma*, GRUBY 1843 e 2° genere *Castellanella*, CHALMERS 1918, emendavit JACONO 1935.

La definizione di questi due generi è la seguente:

1° genere *Trypanosoma*, GRUBY 1843, emoflagellati della famiglia *Trypanosomidae* e costituiti, nelle forme adulte, da elementi ovalari e globosi (il diametro trasversale è poco più breve del diametro longitudinale) con protoplasma a struttura fibrillare, con nucleo centrale, piccolo rispetto ai diametri del parassita, a cromatina diffusa, senza mai vacuoli, e caratterizzati principalmente dalla situazione del cinetoculo immediatamente vicino al nucleo;






2° genere *Castellanella*, CHALMERS 1918, emendavit JACONO 1935: emoflagellati della famiglia *Trypanosomidae* costituiti, nelle forme adulte, da elementi generalmente allungati (il diametro longitudinale è considerevolmente maggiore di quello trasversale) con protoplasma granuloso od omogeneo, con nucleo granuloso, grande rispetto ai diametri del parassita, centrale o spostato verso la estremità afflagellata, e caratterizzati principalmente dalla situazione del cinetoculo verso la estremità afflagellata. (Vedasi fig. 1).

La *Castellanella gambiensis* è un flagellato munito di un sol flagello con nucleo separato dal blefaroblasto: le sue dimensioni medie oscillano da 15 a 30 micron in lunghezza a 1,5, a 2,5 in larghezza. Questo parassita, nella sua forma tipica, si presenta come un corpo fusiforme costituito da una massa citoplasmatica finemente granulosa, la

quale contiene un grosso trofonucleo, generalmente ovale, situato al centro del corpo ed un'altra piccola massa cromatica situata alla parte afflagellata (posteriore) del corpo che rappresenta la fusione del cinetoculo col blefaroblasto: da questo si diparte un flagello che si accolla al corpo e limita esternamente la membrana ondulante venendo a costituire il bordo libero della membrana stessa che si può considerare il periplasma del parassita. Il flagello si prolunga al di là della estremità anteriore del parassita divenendo così indipendente e costituendo l'organo di locomozione.

### FAMIGLIA TRYPANOSOMIDAE

#### GENERI

Trypanosoma GRUBY 1843	
Castellanella CHALMERS 1918 Emendavit JACONO 1935	
Crithidia LEGER 1902	
Leptomonas KENT 1880	
Leishmania ROSS 1903	
Phytomonas DONOVAN 1909	<b>INVERTEBRATI E PIANTE</b>

zione del protozoo; nel citoplasma che circonda il nucleo si possono osservare granulazioni cromofile che sono specialmente evidenti verso l'estremità anteriore.

Questo aspetto morfologico della *Castellanella gambiensis*, sostanzialmente simile a quello della *Castellanella brucei*, è quello che generalmente si riscontra nel sangue dell'uomo o dell'animale infetto. Però, oltre questa particolare forma, la castellanella può presentare altri aspetti morfologici il cui significato biologico è tutt'ora oggetto di studio e di discussione.

Infatti sono state descritte forme corte (14 a 20 micron), forme medie (20 a 24 micron), forme lunghe (22 a 33 micron), e forme peculiari che, per le loro caratteristiche, adombrano la morfologia di parassiti dei generi *plasmodium* (senza flagello e rotondeggianti), *crithidia* (con blefaroblasto avanti il nucleo), *leishmania*, ecc., ecc. Queste forme peculiari hanno dato luogo alle più disparate interpretazioni inquantochè vi sono stati di quelli che hanno suggerito l'idea di dimorfismi sessuali, altri di particolari forme di resistenza, altri di aspetti degenerativi del parassita.

Il CASTELLANI, quando scoprì l'agente etiologico della malattia del sonno, descrisse nel liquido cerebro spinale degli ammalati, oltre alle forme tipiche di castellanella, che usualmente si osservano, altre forme che rassomigliavano perfettamente a quelle già vedute dal PLIMMER e BRADFORD per la *Castellanella brucei*: queste forme erano caratterizzate da un aspetto globoso od ovoidale del parassita, con nucleo e blefaroblasto presente, con conservazione od assenza del flagello (vedasi fig. 2). Queste forme, che il CASTELLANI interpretò come probabili fasi degenerative del parassita, sono state oggetto di minuziose ricerche da parte di vari Autori i quali si sono sforzati di risolvere il quesito del loro vero significato.

Dalle investigazioni compiute sul ciclo vitale della *Castellanella gambiensis* si sa ormai che il parassita negli animali da esperimento (cavie, ratti) cresce di numero nel sangue periferico per un processo di divisione, quindi declina fino a scomparire per poi riapparire tornando a moltiplicarsi nel sangue fino alla morte dell'animale.

Le castellanelle diminuiscono successivamente nel sangue periferico sino quasi a scomparire e possono più facilmente essere rinvenute nei polmoni, nella milza, nel midollo delle ossa. In questi organi si modificano notevolmente; il protoplasma pare distaccato dalla periferia del nucleo e lascia intorno a questo uno spazio chiaro. Il nucleo nettamente colorato appare contornato da un vacuolo che l'avvolge a guisa di capsula; il resto del corpo cellulare con il flagello ed il cinetoneucleo si disgregano e possono staccarsi dal nucleo che rimane avvolto da un vacuolo chiaro.

Queste forme furono chiamate « *latent bodies* » cioè forme o corpi latenti perchè si riteneva che da esse si ripristinasse il tipico parassita. Le forme latenti sarebbero quindi costituite da un nucleo nettamente delimitato contenente un centrosoma e contornato da un vacuolo che lo circonda a guisa di capsula: il tutto sarebbe avvolto da un sottile involucro di citoplasma.

Questi corpi rotondeggianti con o senza il piccolo flagello, sono probabilmente identici alle forme trovate dal CASTELLANI nel liquido cerebro spinale di ammalati di castellanosi umana africana e da lui descritte con

il nome di « ameboid forms » e probabilmente identici alle forme rinvenute da PERUZZI nell'infestazione sperimentale di scimmie e da lui descritte con le seguenti parole che riportiamo e traduciamo dal « Rapport final de la Société des Nations pour l'Étude de la Trypanosomiase Humaine, 1928 » :

« Nel liquido cerebro-spinale i tripanosomi erano sempre dei tripanosomi immobili con un corto flagello senza ondulazioni percettibili o ridotti al solo nucleo..... ».

Comunque, vi sia o no identità tra i corpi latenti e le forme descritte dal CASTELLANI e dal PERUZZI, noi abbiamo ritenuto opportuno riprendere lo studio di questi aspetti biologici anormali della *Castellanella gambiensis*, servendoci di un ceppo di *Castellanella gambiensis* isolato da un ammalato della nostra Clinica ed eseguendo ricerche in vitro e in vivo.

*Cavia N. 1.* — Inocolata il 29 dicembre 1934 con 1/2 cc. di sangue di cavia ricco di castellanelle. Dopo 5 giorni si aspirano asetticamente dal cuore 8 cc. di sangue ricco di parassiti: 4 cc. vengono messi in un matraccio e 4 cc. in un altro; si procede alla defibrinazione e si pongono i due matracci in ghiacciaia (2°). Si riscontrano parassiti vivi fino alla 14<sup>sa</sup> ora.

Dopo 158 ore si rileva ancora qualche castellanella immobile, ma con preparati colorati si mettono in evidenza aspetti morfologici interessanti: forme a crithidia mobili (fig. 3), forme a leishmania (fig. 4) e nuclei liberi (fig. 5).

La inoculazione di 2 cc. di questo sangue ad una cavia per via endoperitoneale e di 1 cc. ad un topo per via sottocutanea non determina negli animali la infezione.

*Cavia N. 2.* — Viene inocolata il 2 febbraio 1935 con 1/2 cc. di sangue ricco di castellanelle. Dopo una settimana si prelevano con puntura cardiaca 10 cc. di sangue, ripartiti in due matracci, defibrinati e poi messi in ghiacciaia (2°).

In ambedue i matracci sostanzialmente si osserva il medesimo comportamento.

I parassiti con note di lisi mostrano tendenza ad ammuccchiarsi (fig. 6), e diminuiscono rapidamente di numero fino a scomparire del tutto verso il 4° giorno. In preparati colorati si riscontrano numerosi residui nucleari e qualche parassita vacuolato e degenerato con rare forme anomale (fig. 7). La inoculazione di 3 cc. di questo sangue ad una cavia per via endoperitoneale e 1/2 cc. ad un topo per via sottocutanea non determina la infezione.

*Cavia* N. 3. — Viene inoculata il 4 febbraio 1935 con 1/2 cc. di sangue ricco di castellanelle. Dopo 7 giorni vengono prelevati dal cuore 10 cc. di sangue, distribuiti in due matracci, defibrinati e messi in ghiacciaia (2°).

Le castellanelle rimangono vive fino all'8° giorno.

Con preparati colorati si riesce a mettere in evidenza una quantità notevole di variazioni morfologiche del parassita rappresentate da forme a crithidia mobili e rotondeggianti od a pera e da forme a leishmania o a plasmodio, oltre a numerosi residui nucleari (figg. 8, 9, 10, 11).

La inoculazione di 3 cc. di questo sangue per via endoperitoneale ad una cavia previamente smilzata e di 1 cc. ad un topo per via sottocutanea non determina la trasmissione dell'infezione.

*Cavia* N. 4. — Viene inoculata il 6 febbraio 1934 con 1/2 cc. di sangue ricco di castellanelle. Dopo 6 giorni vengono asetticamente prelevati dal cuore 10 cc. di sangue, introdotti in un matraccio, defibrinati e poi collocati in ghiacciaia (2°).

Le osservazioni periodicamente eseguite dimostrano la sopravvivenza delle castellanelle fino al 13° giorno ma dopo il 5° giorno il numero dei parassiti si va notevolmente riducendo.

In preparati colorati si rilevano forme atipiche di castellanella, forme a crithidia mobili (fig. 12), a leishmania (fig. 13), giganti e molti residui nucleari (fig. 14). La inoculazione per via sottocutanea di 4 cc. di questo sangue ad una cavia previamente smilzata e di 1 cc. ad un topo per via sottocutanea non determina attecchimento dei parassiti.

*Cavia* N. 5. — Viene inoculata il 7 febbraio 1935 con 1/2 cc. di sangue ricco di castellanelle. Dopo 7 giorni viene prelevato dal cuore sangue in dose di 10 cc., messo in due matracci e defibrinato: i matracci sono collocati in ghiacciaia (2°).

Si osservano parassiti vivi fino al 4° giorno.

In preparati colorati si riscontrano nuclei liberi e forme anomale di castellanella (figg. 15, 16, 17, 18, 19).

La inoculazione di 2 cc. di sangue per via endoperitoneale ad una cavia previamente smilzata non determina infezione.

*Cavia* N. 6. — Viene inoculata il 10 febbraio 1935 con 1/2 cc. di sangue ricco di castellanelle. Vengono al 6° giorno prelevati 5 cc. di sangue, defibrinati nel solito matraccio e poi portati in ghiacciaia (2°).

In preparati colorati si misero al 3° giorno in evidenza solamente forme anomale, nuclei liberi di parassiti degenerati o distrutti e qualche cadavere gigante.

La inoculazione di 2 cc. di sangue per via endoperitoneale ad una cavia non determina infezione.

Queste esperienze confermano che le castellanelle mantengono il loro potere patogeno in vitro per due giorni solamente; oltre questo limite le castellanelle, pur essendo vive e in discreto numero, ma costituite in

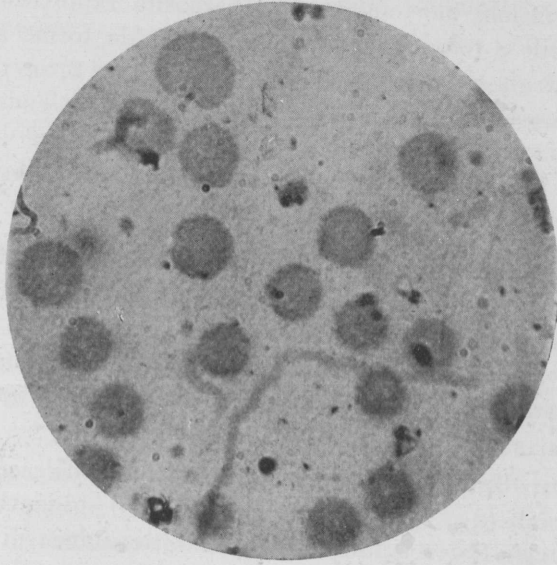


FIG. 18. — Forma a leishmania della *Castellanella gambiensis*.

gran parte da forme anomale, non riescono, inoculate in animali recettivi a dare la infezione.

\*  
\*\*

Riassumendo dalle nostre ricerche risulta che nel sangue di animale infestato con castellanelle conservato in vitro a 2°, oltre le forme tipiche si osservano:

a) forme a *leishmania*, tipiche e tali da ricordare perfettamente i parassiti di LEISHMAN e DONOVAN;

b) forme a *plasmodium*, forme, cioè, arrotondate od irregolarmente poligonali, formate di una massa protoplasmatica a margini non sempre ben definiti, di spessore irregolare contenenti frequentemente vacuoli e granulazioni protoplasmatiche, oltre ad uno o più nuclei con altrettanti blefaroblasti;



c) forme a *leptomonas*, generalmente rotonde, simili alle forme a leishmania, con la differenza che dal blefaroblasto si origina un flagello più o meno lungo;

d) forme a *crithidia*, fusiformi, costituite da una massa protoplasmatica ben definita, di struttura non uniforme, con vacuoli più o meno

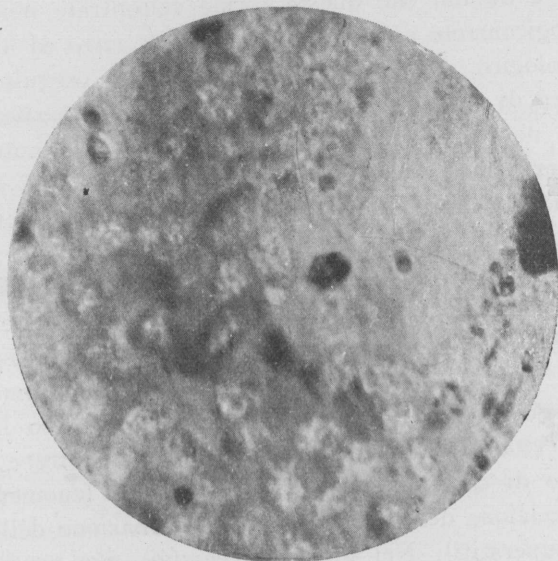


FIG. 19. — Forma a plasmodio della *Castellanelle gambiensis*.

voluminosi, con nucleo ben definito, e proprio accanto a questo un blefaroblasto rotondo, nettamente circoscritto marginale da cui si diparte un filamento cromatico, che costeggia una membrana ondulante poco sviluppata e termina con una estremità libera costituendo il flagello.

\*  
\*\*

Una seconda serie di ricerche è stata praticata su cavie morte per castellanosi da *Castellanelle gambiensis*. Sul sangue, sui liquidi delle cavità peritoneale, pleuriche e pericardiache e in vari tessuti di questi animali morti per castellanosi è stata studiata la morfologia delle castellanelle.

In generale dopo il 40' dalla morte cominciano ad osservarsi, specialmente nella milza e nei liquidi delle cavità, accanto alle tipiche castellanelle, forme atipiche dei parassiti rappresentate da elementi arro-

tondati con protoplasma rigonfio, vacuolato, di cui alcuni adombrano forme a crithidia ed altre forme a leptomonas o a leishmania o a plasmodium (vedansi fig. 20, 21, 22). Progressivamente, col passare del tempo dalla morte, queste forme atipiche diventano più numerose, e le note degenerative del protoplasma diventano più accentuate fino alla sua disgregazione completa, sì che infine si riscontrano solamente nuclei liberi. Non vi è dubbio che queste forme riscontrate nei cadaveri siano simili morfologicamente a quelle riscontrate *in vitro* ed abbiano lo stesso significato biologico. Varie inoculazioni, difatti, eseguite su cavie con sangue o succo di tessuti o con liquido pleurico e peritoneale, ricchi di queste forme, non hanno mai determinato l'attecchimento dei parassiti.

Come interpretare queste forme?

Considerazioni di indole generale e speciale noi riteniamo sia utile esporre allo scopo di addivenire ad una chiarificazione del problema. Non vi è dubbio, innanzi tutto, che molte delle forme da noi rilevate sono sostanzialmente identiche ai « corpi latenti », alle forme ameboidi del CASTELLANI e a quelle recentemente descritte dal PERUZZI.

Ora, tutte queste forme anomale di castellanella cominciano a comparire nel sangue tenuto in ghiacciaia solamente verso il terzo giorno, quando cioè la vitalità dei parassiti accenna a diminuire e quando già un grande numero di castellanelle presenta evidenti fenomeni degenerativi (lisi o vacuolizzazione del protoplasma, agglutinazione delle castellanelle, nuclei liberi superstiti). Nei giorni successivi, pur permanendo ancora rilevante il numero dei parassiti a morfologia tipica, diventano numerose le forme a crithidia e a leishmania che rappresentano le forme abituali fino al 13° 15° giorno. Quindi è indubitato che queste forme anomale sono espressione di aspetti biologici speciali assunti dal parassita quando le condizioni ambientali sono poco favorevoli alla sua moltiplicazione. Difatti *in vitro* non sono mai state osservate forme di divisione del parassita, anzi si è rilevato che se il processo di moltiplicazione di taluni parassiti appariva iniziato all'atto del prelevamento del sangue, esso *in vitro* si arresta.

Inoltre le inoculazioni anche massive in animali recettivi praticate quando il sangue è ricco di tali forme anomale non ha determinato l'infezione: ciò dimostra che si tratta di fasi biologiche del parassita non capace di subire ulteriori evoluzioni e dare quindi la infezione.

Tenuto presente, perciò, il risultato delle prove di inoculazione e il dato che queste forme si accompagnano nella loro comparsa a tipici aspetti degenerativi delle castellanelle, noi riteniamo che tutte le forme da noi osservate, compresi i « latent bodies », altro non siano che aspetti degenerativi delle castellanelle i quali intervengono in ambiente poco adatto per la loro vitalità e per la loro moltiplicazione.

## AUTORIASSUNTO.

Gli AA. in base ad osservazioni eseguite *in vitro* e *in vivo* sulla *Castellanella gambiensis*, sono venuti alla conclusione che molte forme anomale di tale parassita debbono essere considerate come stadi degenerativi.

## RESUMÉ.

D'après leurs études *in vitro* et *in vivo* sur *Castellanella gambiensis* les AA. arrivent à la conclusion que beaucoup de formes anomales de ce parasite doivent être considérés comme stades dégénératifs.

## SUMMARY.

Following observations carried out on *Castellanella gambiensis* both *in vitro* and *in vivo* the Authors have come to the conclusion that many anomalous forms of this parasite are to be considered as degenerate stages.

## ZUSAMMENFASSUNG.

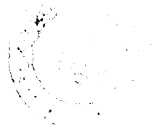
Nach den Beobachtungen *in vitro* und *in vivo* auf *Castellanella gambiensis* vorgenommen sind V. zum Schluss gekommen, dass viele anomalen Formen dieses Parasites als degenerierte Stadien zu betrachten sind.

## LETTERATURA

- BRUCE D. (1911). The Morphology of *Trypanosoma gambiense* (Dutton). *Proc. of the Roy. Soc.*, **84** 327.
- CASTELLANI A. (1903). Die Aetiologie der Schlafkrankheit der Neger. *Zentralbl. f. Bakt. u. Par.* (I orig.), **35** 62.
- FANTHAM H. B. (1911). The Life History of *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma rhodesiense* as seen in rats and Guinea-pigs. *Proc. Roy. Soc.*, **83**, 212.
- JACOPO I. (1935). Osservazioni sui tripanosomi e proposta di una nuova classifica. *Annali di Med. Navale e Coloniale*, **41**, vol. I, 1-18.
- MOORE E. J. (1904). Some Observations pointing to an intracorporeal stage of development in the Trypanosoma. *Lancet*, **82**, 950.
- PLIMMER H. G. e BRADFORD R. J. (1899). Vorläufige Notiz über die Morphologie und Verbreitung des in der Tse-Tsekrankheit (« Fly disease ») gefundenen Parasiten. *Zentralbl. f. Bakt. u. Par.* (I orig.), **26** 440.

- ROBERTSON M. (1913). Notes on the life history of *Trypanosoma gambiense*, with a brief reference to the cycles of *Trypanosoma nanum* and *Trypanosoma pecorum* in *Glossina palpalis*. Phil. Trans. Roy. Soc. (London), **203**, 171.
- PROWAZEK S. (1905). Studien über Säugetier Trypanosoma. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt, **22**, 351.
- HINDLE E. (1910). Degeneration phaenomena of *Trypanosoma gambiense*. Parasitology, **3**, 423.
- BRUMPT E. (1904). Contribution à l'étude de l'évolution des hémogrégaires et des Trypanosomes. C. R. Soc. Biol., **57**, 165.
- PENSO G. (1932). Sui protozoi coltivati dalle feci umane normali. Arch. f. Protistenk., **76**, 83.
- PENSO G. (1934). Sul ciclo di sviluppo del *Trypanosoma gambiense* negli ospiti vertebrati. Ann. Med. Nav. e Col., **40**, vol. I, fasc. I-II.

55261



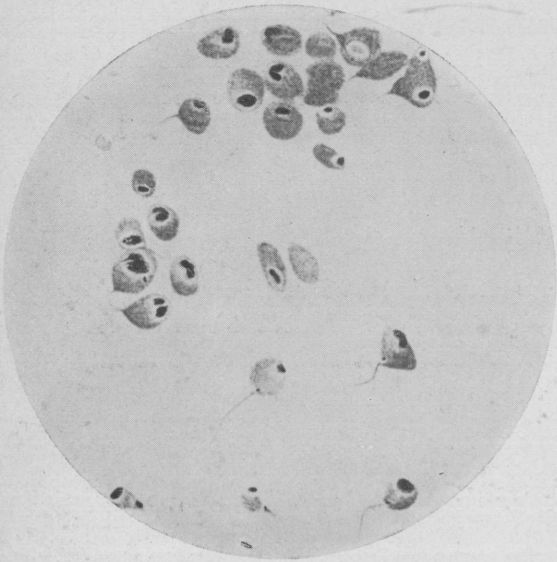


FIG. 2. — Aspetti della *Castellanella gambiensis* osservati dal CASTELLANI nel liquido cefalorachidiano di ammalati della malattia del sonno. (Castellani, Reports of the Royal Society Sleeping Sickness Commission, n. 11, novembre 1903).

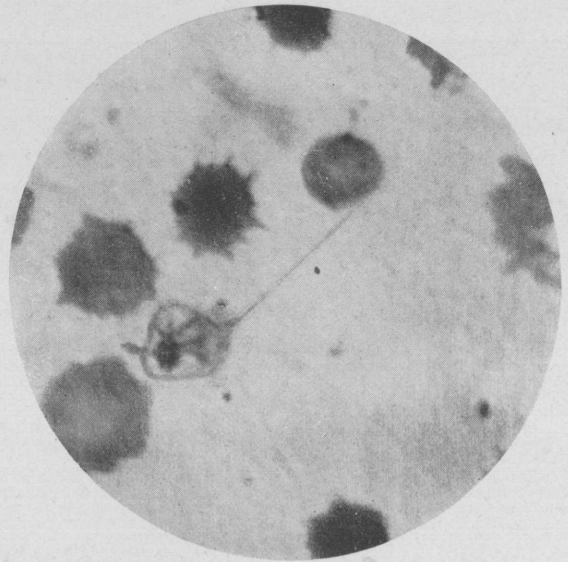


FIG. 3. — Forma a crithidia di *Castellanella gambiensis*.

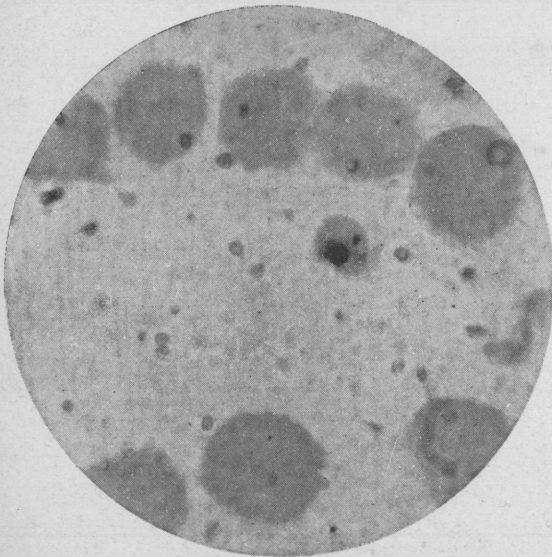


FIG. 4. — Forma a leishmania di *Castellanella gambiensis*.

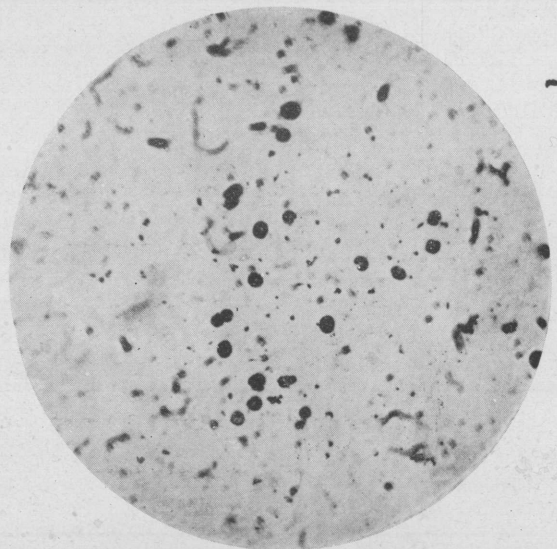


FIG. 5. — Nuclei liberi di castellanelle.

A. CASTELLANI e I. JACONO. — Ricerche sperimentali sul polimorfismo della *Castellanella gambiensis*.



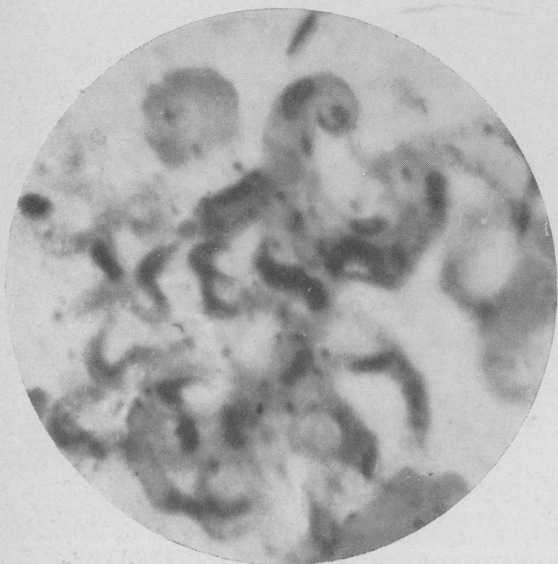


FIG. 6. — Parassiti ammassati e degenerati.

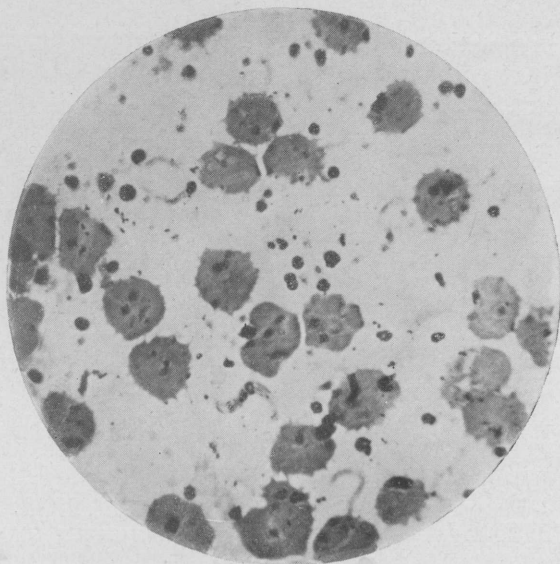


FIG. 7. — Forme in via di degenerazione di *Castellanella gambiensis* e nuclei di parassiti degenerati.

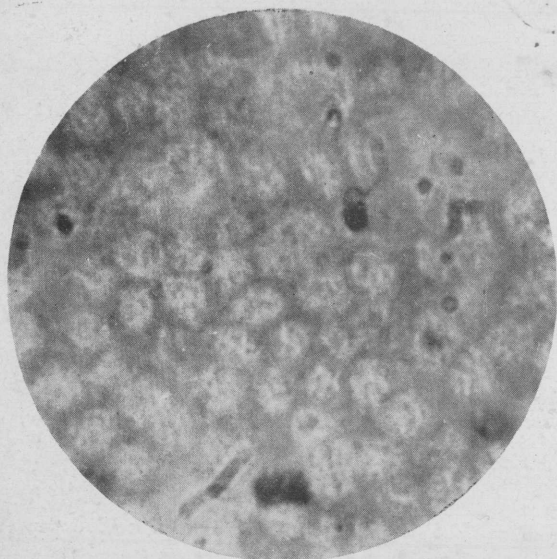


FIG. 8. — Forma a crithidia della *Castellanella gambiensis*.

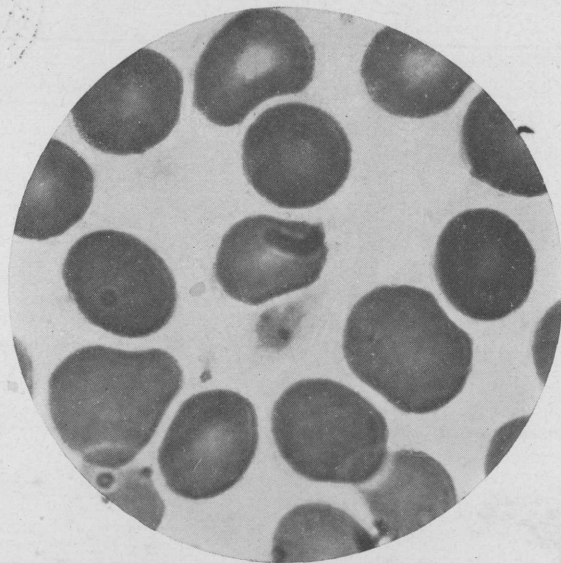


FIG. 9. — Forma leishmanioide della *Castellanella gambiensis*.

1000



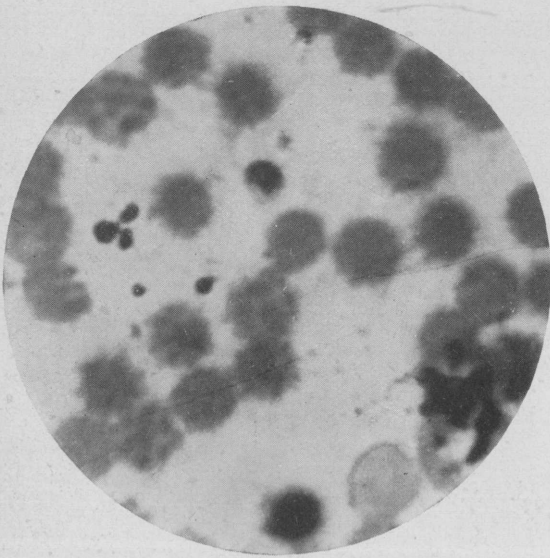


FIG. 10. — Forma a plasmodio e nuclei liberi della *Castellanella gambiensis*.

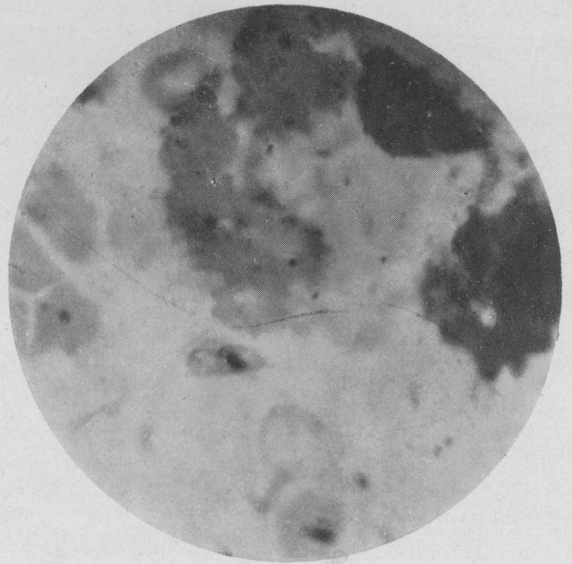


FIG. 11. — Forma a crithidia della *Castellanella gambiensis*.

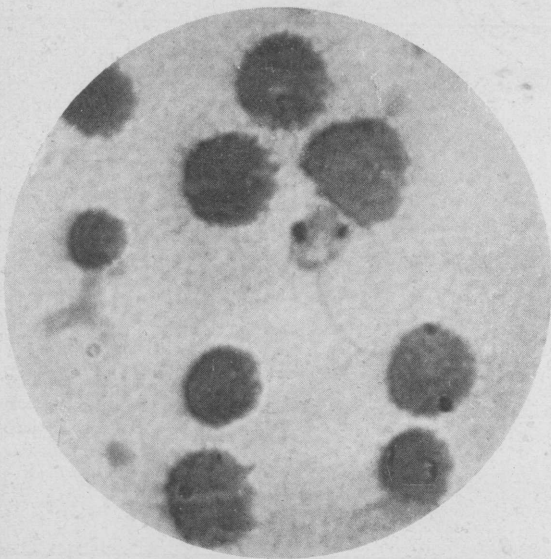


FIG. 12. — Forma a crithidia della *Castellanella gambiensis*.

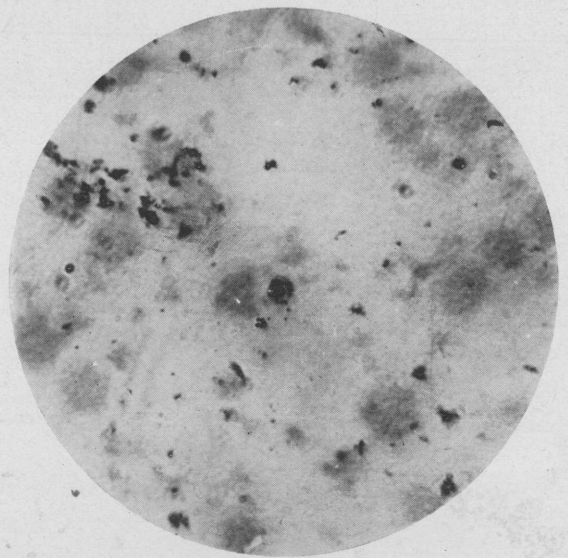


FIG. 13. — Forma a leishmania della *Castellanella gambiensis*.





FIG. 14. — Residui nucleari di *Castellanella gambiensis*.

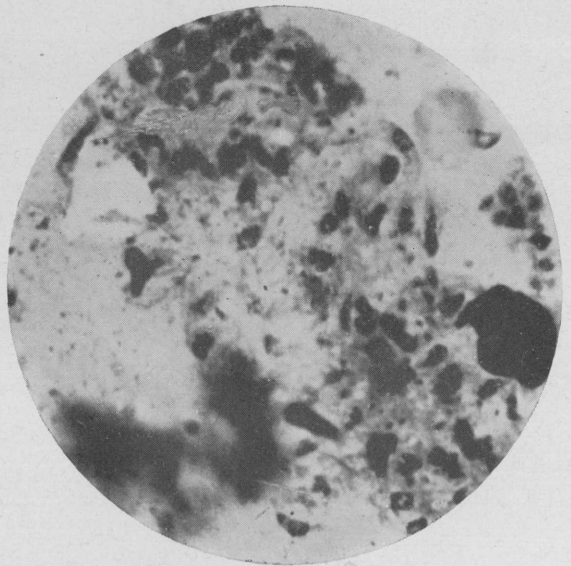


FIG. 15. — Raggruppamento di *Castellanelle* degenerate o in stadi atipici.

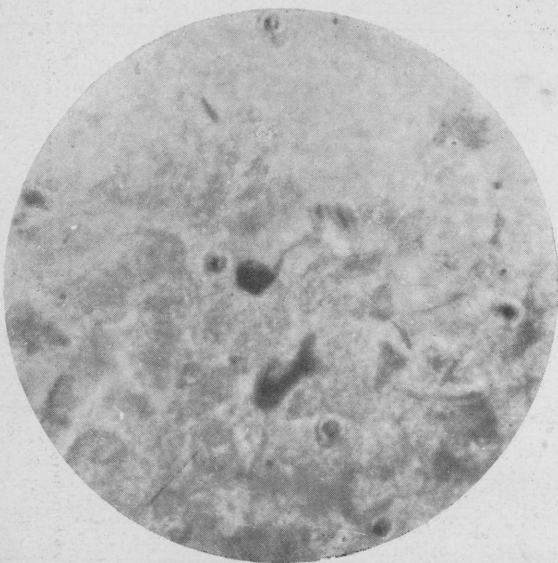


FIG. 16. — Forma a leptomonas della *Castellanella gambiensis*.

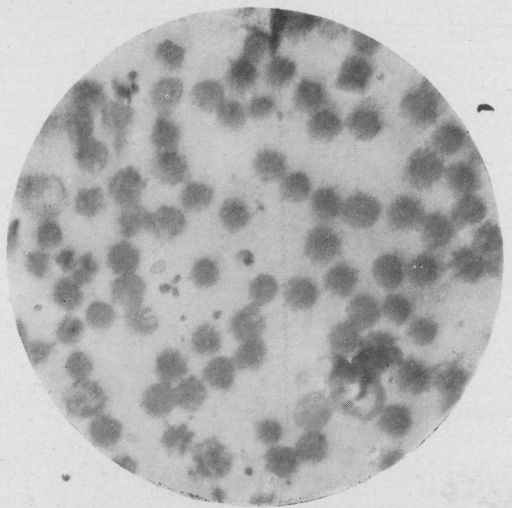
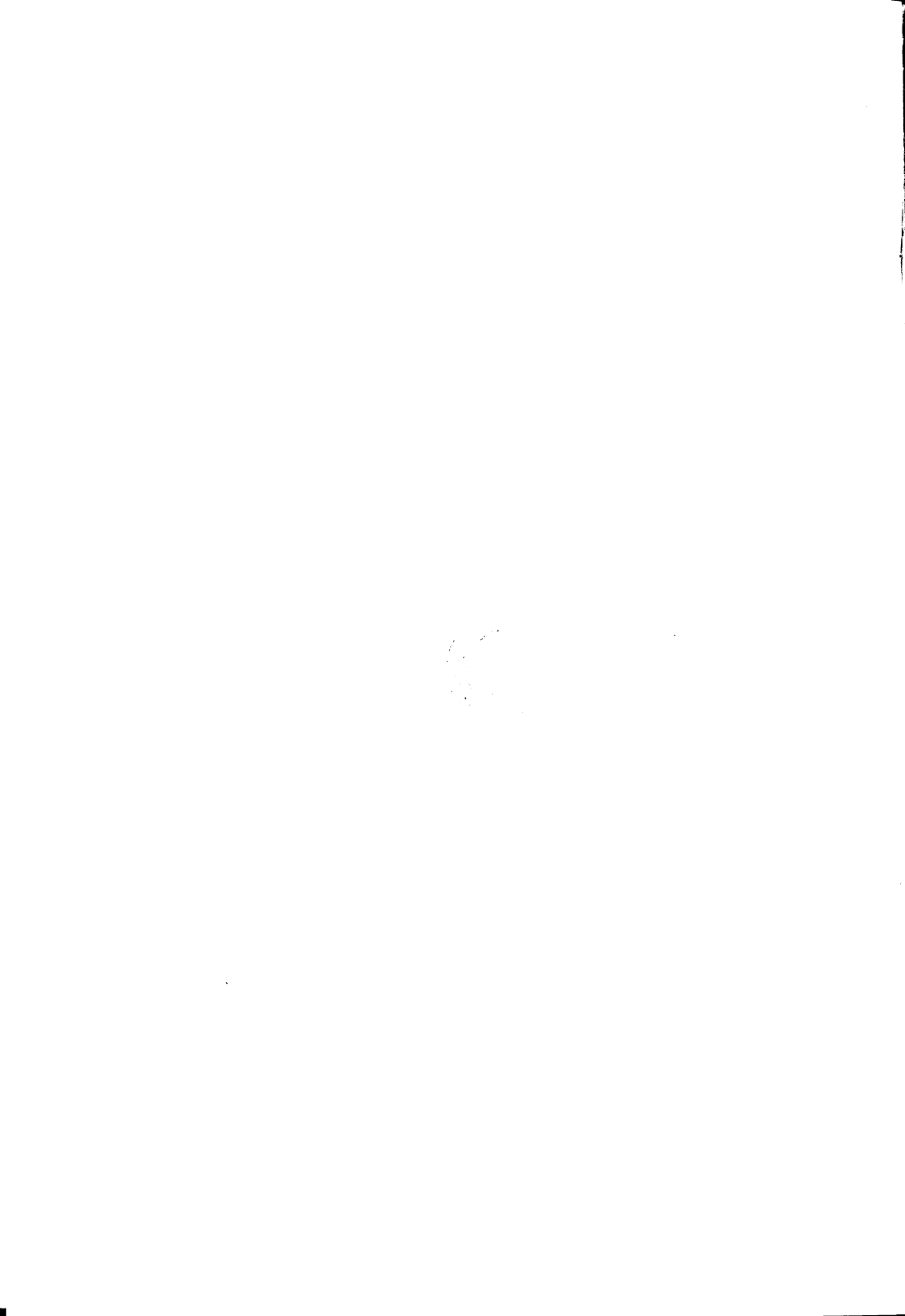


FIG. 17. — Forma a leptomonas della *Castellanella gambiensis*.



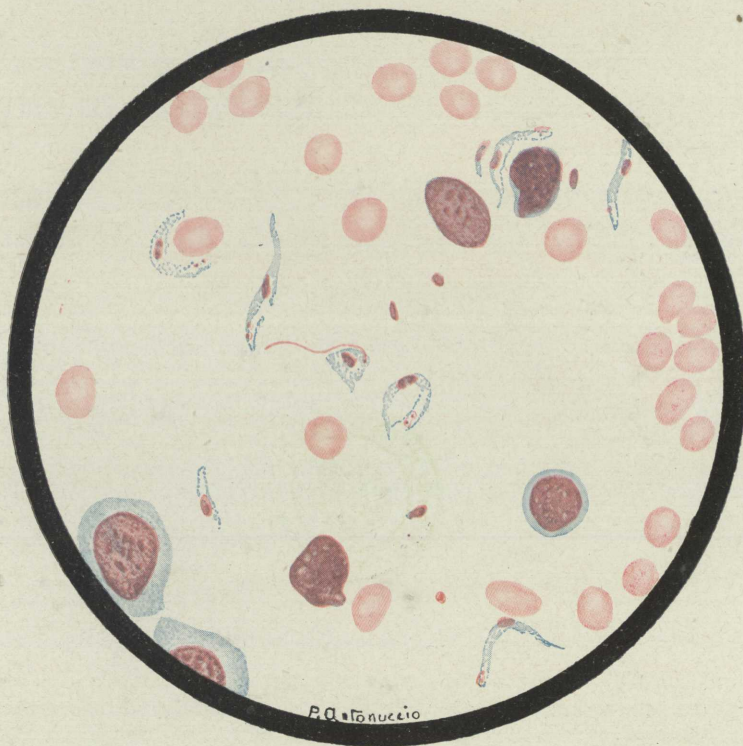


FIG. 20.

A. CASTELLANI e I. JACONO. — Ricerche sperimentali sul polimorfismo della *Castellanella gambiensis*.





FIG. 21.

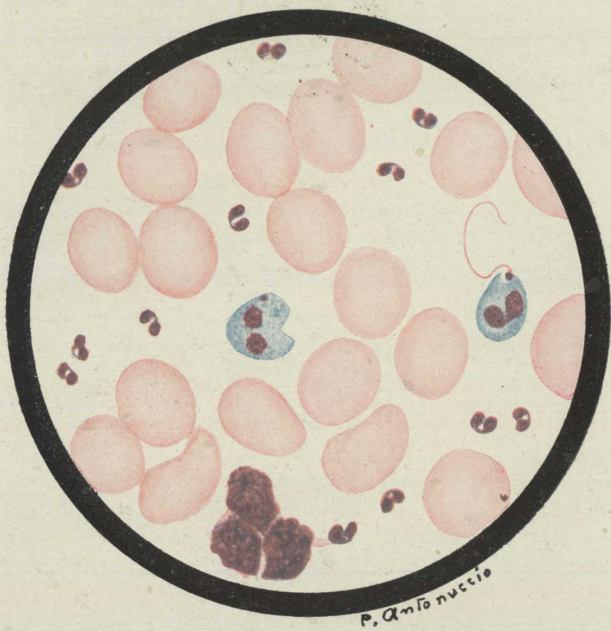


FIG. 22.

A. CASTELLANI e I. JACONO. — Ricerche sperimentali sul polimorfismo della *Castellanella gambiensis*.

318031



