

Misc B74/ 86

CLINICA DELLE MALATTIE TROPICALI E SUBTROPICALI DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA.

Direttore: Sum. Prof. ALDO CASTELLANI di CHISIMAJO

BIAGIO URSO

Breve nota sul tokelau sperimentale

« Estratto dall'« Archivio Italiano di Scienze Mediche Coloniali e di Parasitologia »  
Vol. XXII (VII della Nuova Serie) - 1941-XX »



« EDIZIONI UNIVERSITARIE »

VIA V. VENETO N. 34-B - ROMA



## BREVE NOTA SUL TOKELAU SPERIMENTALE<sup>(\*)</sup>

BIAGIO URSO — Assistente Ordinario

Com'è noto, il Tokelau (1) (*Tinea imbricata*, *Tinea concentrica tropicalis*) è una epidermomicosi comunissima in alcuni paesi tropicali: è stata descritta sin dal 1789 da DAMPIER nel suo libro « Viaggio intorno al mondo ». Nel 1871, TILBURY FOX diede una descrizione della malattia con il termine di *Tokelau ringworm*. Egli trovò nelle squamme un fungo filamentoso e lo considerò identico ai funghi delle tricofizie europee.

La discussione cominciò a quel tempo e continuò per molti anni sull'argomento se la malattia era una entità a sè o semplicemente una tricofizia europea modificata dalle diverse condizioni di clima. La grande maggioranza degli Autori europei che non avevano avuto esperienza personale della malattia furono contrari a considerarla come diversa, mentre i medici pratici dei tropici, nella generalità, credevano che fosse una malattia diversa da una tricofizia europea. Parecchie ricerche furono praticate da Mc GREGOR nel 1870 e da CONIGER nel 1871: ma le più importanti sono state quelle di MANSON in Cina nel periodo che va dal 1879 al 1882. Egli descrisse in modo magistrale la malattia ed introdusse per primo l'appropriato termine di *Tinea imbricata*, dando inoltre una descrizione microscopica del fungo, benchè, per ragioni inerenti alla tecnica di quel tempo, non riuscisse a coltivarlo. Il MANSON considerò il fungo un *Trichophyton* non coltivabile, per il quale il BLANCHARD suggerì il nome di *Trichophyton concentricum*.

(\*) Il lavoro è stato già pubblicato nel « Giornale Italiano di Dermatologia e Sifilologia », fasc. VI - 1944-XX.

(1) Il lettore che si interessa dell'argomento può consultare il libro di A. CASTELLANI: *Fungi and Fungous Disease*. — Ann. Med. Ass., 1927, Chicago, III.

In seguito la malattia è stata considerata come una forma di aspergillosi.

Nel 1910-11, il CASTELLANI studiò la malattia a Ceylon e poté provare che l'aspergillo e gli aspergillo-simili non avevano nulla a che fare con la malattia e che quando sono presenti nelle squamme (ed è facile trovarli) essi rappresentano dei saprofiti oppure un inquinamento. Usando una speciale tecnica il CASTELLANI ottenne la crescita di un fungo che egli considerò il vero agente causale della malattia, per la quale egli stesso creò il genere *Endodermophyton*.

La malattia è molto comune nelle isole Figi ed in altre isole del Pacifico. Si trova anche frequentemente nella Cina meridionale, nel Tonchino, a Giava ed a Ceylon. Dei casi sono stati descritti anche nelle regioni tropicali dell'America e dell'Africa, ma sono dubbi.

L'etiologia della malattia è stata sempre, come si è detto, argomento di molte controversie.

Come abbiamo già accennato TILBURY FOX aveva considerato il fungo identico a quello della tricofizia europea. Nel 1879 e negli anni seguenti, il MANSON aveva descritto la *Tinea imbricata* come data da un fungo, *trichophyton*, che però non riuscì a coltivare; BLANCHARD considerò il fungo non coltivabile, lo chiamò *Trichophyton concentricum*.

Successivamente, NIEUWENHUIS fece conoscere che si poteva con molta facilità e rapidità coltivare direttamente il fungo dalle squamme in terreni solidi, e che le colonie si presentavano di aspetto crateriforme. I risultati di questo Autore non furono però confermati.

Dopo le ricerche di TRIBONDEAU e WEHMER divenne opinione generale che la malattia doveva considerarsi una forma di aspergillosi; TRIBONDEAU infatti descrisse delle fruttificazioni leggermente diverse da quelle dell'aspergillo e creò il genere *Lepidophyton*; WEHMER lo descrisse come un vero aspergillo: *Aspergillus Tokelau*.

Nel 1910-11, il CASTELLANI, come si è detto, eseguì delle importantissime ricerche sulla malattia a Ceylon e venne alla conclusione che l'*Aspergillus* che era stato considerato l'agente etiologico della malattia era un semplice saprofita oppure un inquinamento; usando uno speciale metodo riuscì a coltivare il fungo che causava la malattia, e, con le colture pure, a riprodurre sperimentalmente la malattia su dei volontari.

Per denominare tali funghi creò il genere *Endodermophyton*.

I funghi appartenenti a tale genere sono caratterizzati dalla crescita fra lo strato superficiale e lo strato profondo dell'epidermide di un intreccio di filamenti miceliali che distacca lo strato corneo e granuloso dallo strato spinoso. Lo strato spinoso può essere però anch'esso invaso: non vengono mai attaccati i follicoli piliferi e non si ha mai suppurazione.

Le colture sono simili a quelle del genere *Achorion*. La difficoltà nel coltivare tali funghi è dovuta al fatto che, in molti casi, essi non crescono direttamente dalle squamme in terreni solidi. Il CASTELLANI ha introdotto nell'uso comune il seguente metodo: si prelevano le squamme dalle lesioni e si trattano in alcool assoluto per 5-10 minuti, indi si pongono in tubi di brodo glucosato (una squama in ciascun tubo): dopo alcuni giorni, alcuni dei tubi si troveranno inquinati dai comuni germi, ma in alcuni che rimangono limpidi, dopo un periodo di tempo che va dai 5 ai 10 giorni, si può osservare una delicata crescita di filamenti miceliali, corti, che si originano dalle squamme. Tale crescita aumenta gradatamente fino ad assumere dopo alcune settimane, l'aspetto di una piccola massa bianca, cotonosa, con una macchiolina secura nel centro data dalla squama. Il fungo può essere poi trapiantato in terreni solidi nei quali cresce molto bene e può essere coltivato indefinitamente.

Il CASTELLANI ha descritto di tale fungo quattro specie: *Endodermophyton tropicale*, *Endodermophyton indicum*, *Endodermophyton concentricum*, *Endodermophyton mansonii*.

Le due specie più importanti sono: l'*E. tropicale*, e l'*E. indicum*.

#### ENDODERMOPHYTON TROPICALE. CASTELLANI 1914.

Questo fungo si trova in grande quantità nelle lesioni dove forma un intreccio di filamenti miceliali i quali sono costituiti da numerosi articoli miceliali disposti regolarmente l'uno dopo l'altro: hanno forma rettangolare o quasi quadrata e generalmente non sono ricurvi. Lasciando agire la soluzione di potassa caustica (40%) per qualche tempo, si osserva un doppio contorno degli articoli, che sono di lunghezza variabile e larghi da 2 a 3,5 micron. I principali caratteri delle colture su terreni solidi alla temperatura dell'ambiente dopo 15-21 giorni sono i seguenti:

Agar glucosato al 4%: sviluppo abbondante, superficie cerebriforme o increspata. Sia le colture che il terreno mostrano un colore ambra chiaro che può assumere

poi una tinta più scura. Di regola non vi è lanugine, ma le vecchie colture trapiantate parecchie volte ed in via di degenerazione possono presentare una corta lanugine biancastra.

Agar maltosato di Sabouraud: sviluppo relativamente scarso del fungo che è di colorito bianco-grigiastro, ed in gran parte infossato nel terreno. Le colonie sono biancastre, hanno generalmente un piccolo rilievo centrale e non presentano lanugine. La porzione infossata è fortemente incastonata e spesso presenta ramificazioni che si approfondano nel terreno. Il colore del terreno non cambia.

Agar glicerinato: lo sviluppo è simile a quello che si ha nel terreno di Sabouraud. Quando le colonie si uniscono la coltura presenta una superficie bernoccoluta. Non si osserva lanugine.

Agar semplice: sviluppo scarso simile a quello che si ha nel terreno di Sabouraud. Non si osserva lanugine.

Agar-mannite al 4 %: aspetto simile alle colture in agar glucosato, ma lo sviluppo è meno abbondante. Il terreno può assumere un leggero colore ambra. Non si osserva lanugine.

Agar-saccarosio al 4 %: sviluppo scarso simile a quello che si ha nel terreno di Sabouraud; lanugine assente.

Agar-nutrosio al 4 %: sviluppo lentissimo: le giovani colonie separate hanno un rilievo centrale, esse si riuniscono successivamente in una massa bernoccoluta.

Agar maltosio (acido): sviluppo simile a quello che si ha nel terreno di Sabouraud.

Agar maltosio (alcalino): sviluppo simile a quello che si ha nel terreno di Sabouraud.

Agar adonite: sviluppo poco abbondante; aspetto cerebriforme della coltura; lanugine assente.

Agar galattosio: bernoccoluta o cerebriforme.

Agar levulosio: bernoccoluta.

Agar raffiniosio: cerebriforme.

Agar inulina: cerebriforme.

Agar saccarina al 4 %: superficie bernoccoluta; lanugine assente.

Agar lattosio: sviluppo simile a quello che si ha nel terreno di Sabouraud, ma la superficie cresce più abbondantemente.

Gelatina: leggerissima liquefazione del terreno di coltura.

Latte: sviluppo scarsissimo, dopo un po' di tempo può aversi coagulazione.

Brodi zuccherati (maltosio, lattosio, ecc.): scarso sviluppo al fondo del tubo; non si produce nè acido nè gas.

Nei preparati a goccia pendente da coltura (brodo al maltosio di Sabouraud) si vedono lunghi filamenti miceliali. La riproduzione avviene per artrospore.

#### ENDODERMOPYHTON INDICUM, CASTELLANI 1911.

L'aspetto microscopico del fungo nelle squamme è identico a quello dell'*E. tropicale*. I principali caratteri culturali nei terreni solidi, quando la crescita ha luogo al buio, senza tappi di gomma nei tubi, dopo 15-21 giorni, sono i seguenti:

Agar glucosato al 4 %: sviluppo abbondante con superficie solcata. Parte della coltura spesso nella zona centrale assume colorito arancio scuro o rosso ed occasional-

mente rosso brillante. La superficie del resto della coltura spesso appare bianca essendo ricoperta da una corta e delicata lanugine bianca.

Agar maltoso di Sabouraud: sviluppo lento con superficie bianca, con bernoccoli centrali o con volute. La coltura non si approfonda tanto nel terreno come l'E. tropicale.

Agar-glicerina: sviluppo abbondante, bianco o di colore ambra; in qualche porzione è presente una delicata e bianca lanugine.

Agar semplice: sviluppo abbastanza abbondante, superficie bernoccoluta, coperta da una delicata cortissima lanugine bianca.

Agar mannite: sviluppo di coltura bernoccoluta o con volute coperta da una bianca e corta lanugine.

Agar saccaroso: cerebriforme coperta da bianca lanugine.

Agar maltoso (acido): superficie simile a quella del terreno di Sabouraud, ma la crescita si presenta meno abbondante.

Agar lattosio: superficie bernoccoluta coperta da lanugine bianca.

Agar nutrosio: la superficie ondulata diviene gialla. Presenza di una corta lanugine.

Agar levulosio: sviluppo scarso, colorito giallo-arancio: presenza di una corta lanugine bianca.

Agar galattosio: superficie abbondante con volute: presenza di corta lanugine bianca.

Agar raffinoso: lo stesso aspetto delle colture in agar galattosio.

Agar inulina: lo stesso aspetto delle colture in agar raffinoso ed agar galattosio.

Agar adonite: cerebriforme, superficie coperta con lanugine bianca.

Gelatina: liquefazione lenta.

Latte: cresce scarsissimamente. Dopo un po' di tempo si può avere coagulazione.

Brodo con vari zuccheri (maltosio, lattosio, ecc.): scarso sviluppo al fondo del tubo. Non si ha produzione di acidità o di gas.

Nei preparati a goccia pendente si osservano lunghi filamenti miceliali e non si vedono nè conidi nè fruttificazioni di alcun genere. La riproduzione avviene per artrospore.

#### ESPERIENZE PERSONALI.

Poichè l'etiologia della malattia è considerata ancora controversa da alcuni Autori, ho voluto riprodurre sperimentalmente la malattia ripetendo gli esperimenti del CASTELLANI di molti anni fa.

Ho condotto le esperienze avvalendomi di uno stipite di *Endodermophyton indicum* isolato dal CASTELLANI stesso al Ceylon nel 1911. Questo stipite è stato regolarmente trapiantato in sottocolture da allora una volta al mese.

Ho praticato su me stesso sulla regione flessoria dell'avambraccio sinistro tre scarificazioni, come si pratica per la vacci-

nazione antivaiolosa, ed ho applicato della coltura pura da terreno di SABOURAUD di *Endodermophyton indicum*. Le scarificazioni sono state poi ricoperte con delle compresse di lana sterili e fasciate. È da notare che l'inoculazione è stata eseguita nel periodo luglio-agosto per sfruttare le condizioni di clima più adatte allo sviluppo del fungo. Nelle giornate meno calde per favorire lo sviluppo dei miceti, si sono adoperati particolari accorgimenti consistenti in applicazioni di vapore

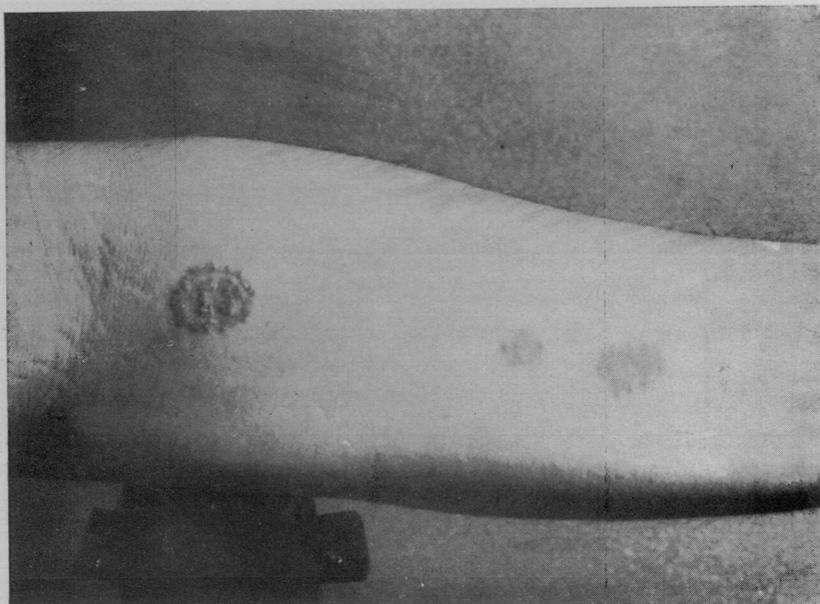


Fig. 1.

caldo (da autoclave) tre o quattro volte al giorno per 15 minuti.

Dopo 24 giorni si è avuta la formazione di piccole papule tondeggianti di colorito rosso-bruno, discretamente pruriginose, disposte ad anello. Dopo alcuni giorni gli strati superficiali dell'epidermide si sollevavano e si rompevano producendosi così un cerchio di squamme triangolari non molto grandi di colorito grigio con l'apice libero e la base fortemente attaccata all'epidermide. L'anello si estese perifericamente in modo graduale e dopo alcuni giorni si sviluppò un secondo anello papulo-squammoso dentro il primo (fig. 1). Prelevando

tali squamme dalle lesioni ho allestito dei preparati con liquore di potassa al 40 %, mettendo in evidenza i caratteristici miceti (fig. 2).

Parimenti sono riuscito dalle squamme stesse, prelevate dalle lesioni, a coltivare nei terreni più comuni il fungo stesso ottenendo le caratteristiche colture cerebriformi di colore

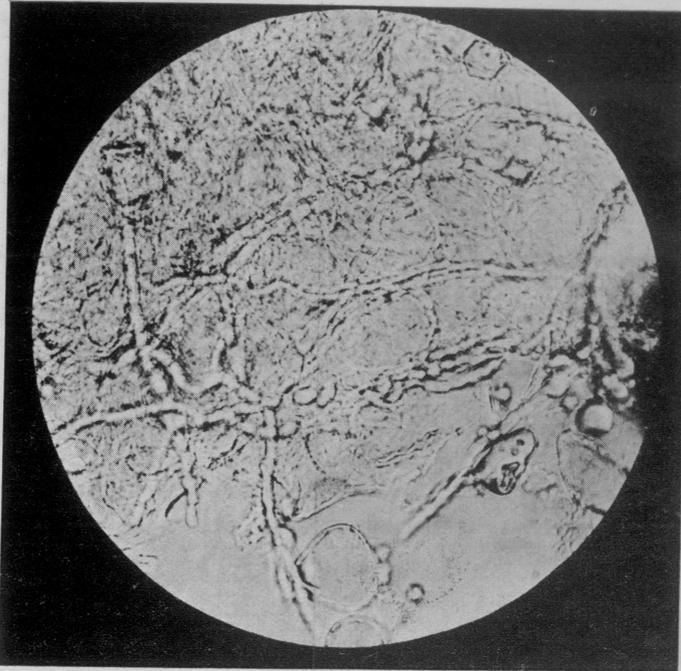


Fig. 2.

rosso-arancione (fig. 3). In uno dei tubi di terreno di SABOURAUD insemenzati con le squamme si è ottenuta la crescita di un *Aspergillus* che però inoculato su scarificazioni al braccio non ha riprodotto la malattia nè ha causato alcuna lesione.

In questi ultimi giorni di settembre, inizia la stagione fresca, le lesioni sono divenute meno evidenti e sarà interessante notare se scompariranno completamente durante la stagione fredda per riapparire, dopo un periodo di latenza, nell'estate prossima.

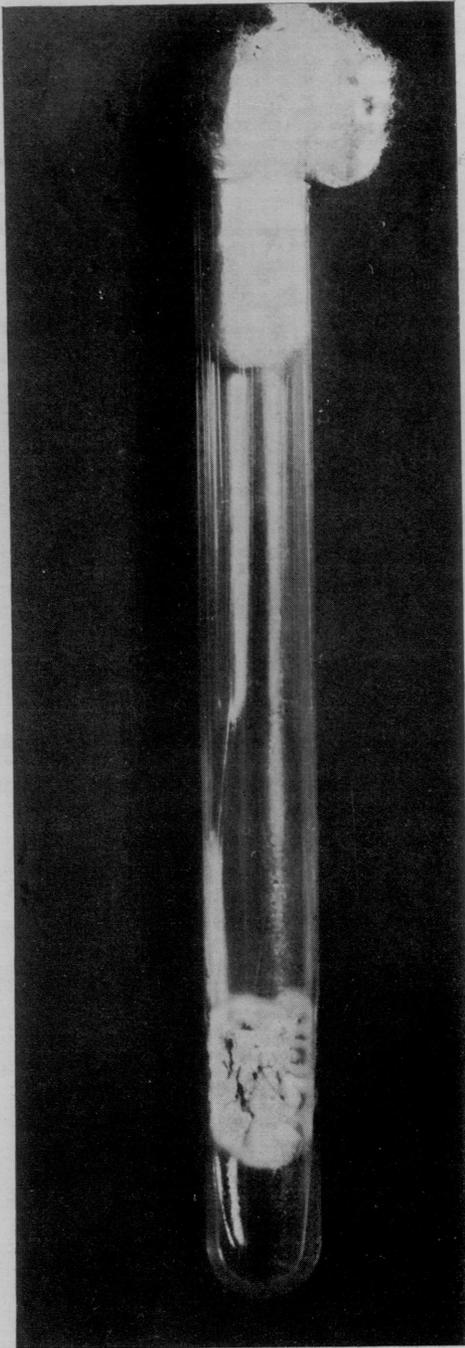


Fig. 3.

## CONCLUSIONE

Da questa breve nota si può concludere :

1) Con colture di uno stipite di *Endodermophyton indicum* CASTELLANI 1911, isolato al Ceylon dal CASTELLANI, mi è riuscito riprodurre su me stesso il Tokelau (*Tinea imbricata*, *Tinea concentrica tropicalis*), confermando così gli antichi esperimenti del CASTELLANI stesso sulla riproduzione sperimentale della malattia nell'uomo.

2) Esperimenti simili fatti con un aspergillo, che si sviluppò in alcuni tubi da coltura, non diedero luogo ad alcuna eruzione. Questo fungo è certamente da considerarsi un saprofita o un inquinamento.

## BIBLIOGRAFIA

- CASTELLANI Aldo - Case of Tokelau (*Tinea imbricata*) of Fifteen Years Standing in an European. « The Medical Press and Circular », May 17, 1933.
- ID. - Fungi and Fungous Diseases. « American Medical Association », 1927, Chicago, Illinois.
- CASTELLANI & JACONO - Manuale di Clinica Tropicale. - Rosenberg e Sellier, Torino.

