

Ms. B76/107.

Istituto di Parassitologia della R. Università di Roma
Direttore Inc.: Prof. V. VANNI

STARCOFF OLEG

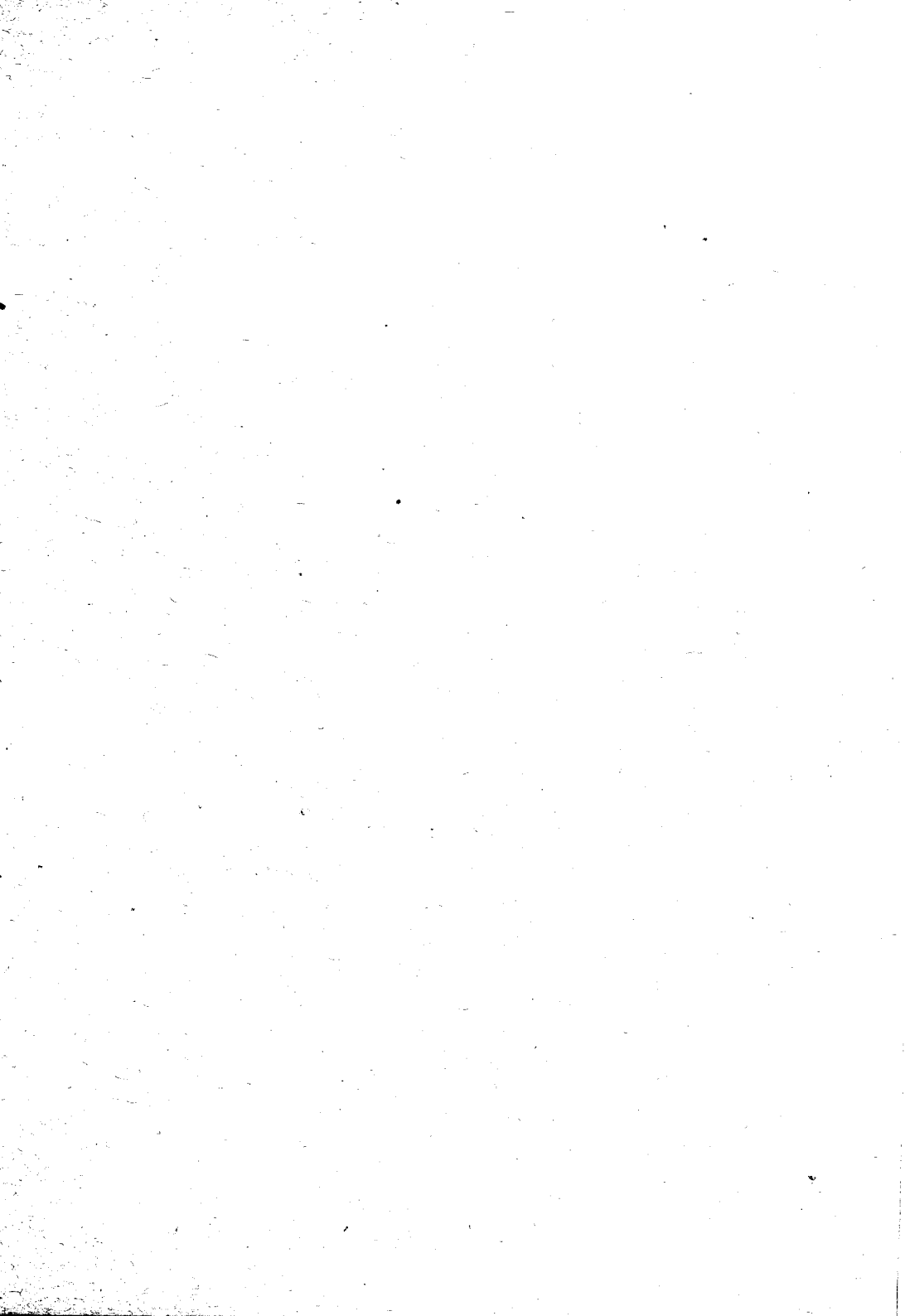
Alterazioni morfologiche
delle cisti di *Giardia intestinalis* (Lambl)
durante il trattamento acrinidico

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



« EDIZIONI UNIVERSITARIE »

VIA V. VENETO N. 34-B - ROMA



ALTERAZIONI MORFOLOGICHE DELLE CISTI DI *GIARDIA INTESTINALIS* (LAMBL) DURANTE IL TRATTAMENTO ACRINIDICO

STARCOFF OLEG. Assistente effettivo

Il problema terapeutico della giardiasi è rimasto sino a poco fa del tutto insoluto: così nel 1932 CARRIÈRE e HURIEZ scrivevano: « De toutes les publications il se dégage que rien n'est plus décevant que les résultats des divers traitements mis en oeuvre et ils sont cependant aussi nombreux que variés ». Similmente, BRUMPT nella 5ª edizione del suo « Précis de Parasitologie », comparso nel 1936, concludeva il capitolo relativo al trattamento della giardiasi dicendo: « le médicament spécifique de la giardiose reste encore à découvrir ».

Fu, come è noto, GALLI-VALERIO di Losanna che, per primo nello stesso anno, ricorse all'Atebrin Bayer, preparato acridinico, somministrato secondo la posologia indicata dalla Casa produttrice per la cura antimalarica, ottenendo brillanti risultati, che vennero ben presto confermati da numerosi osservatori. In seguito altri composti analoghi vennero sperimentati con simile successo.

Attualmente rimane quindi dimostrato che il rimedio specifico della giardiasi intestinale e biliare è costituito dai derivati dal giallo d'acridina: ciò è confermato da una casistica clinica ormai vasta ed ampiamente documentata.

Per quanto concerne il comportamento del parassita di fronte ai derivati acridinici, BACIGALUPO afferma la scomparsa della *Giardia* dalle feci dopo 48 ore dall'inizio del trattamento. TECON, ROMANO e collaboratori affermano la totale scomparsa della *Giardia* dalla bile fin da dopo la somministrazione di due compresse.

MAFFI ha una volta ricercato il flagellato nelle feci a 36 ore dall'inizio del trattamento acridinico: le forme vegetative non erano più reperibili, ancora presenti invece, anche se in numero notevolmente ridotto, le forme cistiche.

BACIGALUPO studiando *in vitro* l'azione dell'Atebrin sulle forme vegetative di *Giardia intestinalis* ha osservato che una soluzione all'1 % agisce rapidamente arrestando i movimenti e determinando la morte dei parassiti, ottenuti tanto mediante sondaggio duodenale che provenienti dalle feci. Secondo lo stesso A. non vi sarebbe invece alcuna azione *in vitro* sulle forme cistiche considerate dal punto di vista morfologico: dopo 24 ore queste erano ancora riconoscibili.

Le mie ricerche personali riguardano lo studio delle modificazioni quantitative e soprattutto morfologiche che subisce il parassita durante il trattamento dell'ospite con derivati acridinici.

Mi sono valso per questo delle osservazioni effettuate su quattro casi di giardiasi intestinale cronica in adulti (21-49 anni) senza precedenti degni di nota, con reperto di forme cistiche nelle feci, non trattati in precedenza con alcun medicamento.

Tecnica delle osservazioni. — Accertato parassitologicamente, mediante esame microscopico delle feci eseguito con l'ausilio del liquido di LUGOL, un caso di giardiasi intestinale, il malato senza subire alcun trattamento medicamentoso, veniva sottoposto per cinque giorni al controllo microscopico del reperto coprologico con particolare riguardo al numero ed alla morfologia delle cisti di *Giardia intestinalis* (LAMBL, 1859) che quotidianamente eliminava.

L'osservazione quantitativa veniva praticata tutti i giorni mescolando un'« ansata » di feci con una goccia di liquido di LUGOL forte, stabilendo un numero medio di cisti per campo microscopico (Obb. 45x Koristka; Oc. 6x).

I rilievi morfologici, ottenuti ugualmente tutti i giorni, si basavano non solo sull'esame in liquido di LUGOL, ma anche sull'osservazione di preparati fissati e colorati. Questi venivano allestiti fissando alcuni « strisciamenti umidi » in liquido di BOUIN, e colorando successivamente colla Ematosilina ferrica di HEIDENHEIN.

Queste osservazioni preliminari di controllo servivano a stabilire, ove fossero presenti, le variazioni quantitative

e morfologiche dei parassiti, indipendentemente da qualsiasi trattamento medicamentoso. Faccio notare che non ho riscontrato, in queste condizioni, variazioni apprezzabili a carico delle cisti, che conservavano sempre la loro tipica morfologia ed erano in numero di 15-20 circa per campo microscopico in tutti quattro i casi.

Terminate le osservazioni di controllo, si iniziava la terapia acridinica con la posologia usuale.

Due pazienti sono stati trattati con Atebrin Bayer, compresse da gr. 0,10 per uso orale, che la Casa mette in commercio in flaconi di 15 compresse, il necessario cioè per una cura completa nell'adulto, attenendosi alle dosi consigliate dalla Casa stessa per la terapia antimalarica, somministrando tre compresse al giorno (da ingoiare senza masticare) prima dei pasti con abbondante liquido.

Altri due pazienti (ugualmente adulti) sono stati invece sottoposti alla cura con Acranil Bayer, compresse per uso orale, confezionate dalla Casa come le precedenti e somministrate con le stesse modalità.

In ambedue i gruppi, dopo 24 ore dall'inizio della cura, si praticava un esame coprologico microscopico su preparati allestiti in liquido di LUGOL e su « strisciamenti umidi » fissati in liquido di BOUIN e colorati colla Ematossilina ferrica di HEIDENHEIN secondo la tecnica usuale. Tale esame si ripeteva quotidianamente per tutta la durata della cura.

Risultati ottenuti. — a) *Atebrin* (bicloridrato del 2-ossimetil-6-cloro-9- α -dictilammino- δ -pentilammino-acridina). Dopo 24 ore dall'inizio della cura il numero delle cisti per campo microscopico risulta pressochè invariato in ambedue i casi osservati, ma sono già evidenti a carico di esse i segni degenerativi di cui si parlerà in seguito.

Dopo 48 ore il numero delle cisti è notevolmente ridotto (da 15-20 a 2-3 per campo microscopico) e tutte sono notevolmente alterate nella loro morfologia, talune appena riconoscibili.

Dopo 72 ore le cisti di *Giardia intestinalis* non sono più reperibili, nè sono state più osservate nei controlli successivi, ripetuti periodicamente durante sei mesi. La negatività del reperto parassitologico fu ben presto seguita dalla scomparsa dei disturbi precedentemente esistenti (costipazione con epi-

sodi diarroici, dolenzia addominale, meteorismo, astenia ed inoltre disturbi cardiaci riflessi in un caso).

Per quanto riguarda la tolleranza del medicamento devo osservare che in un caso si ebbe a lamentare: stato febbrile lieve, cefalea, astenia, nausea, dolenzia in sede epatica, crampi e dolori epigastrici, ed inoltre notevole colorazione gialla dei tegumenti persistente per oltre due mesi.

b) *Acranil* (dicloridrato del cloro-ossimetilacridilammino-dietilammino-propanolo). Dopo 24 ore dall'inizio del trattamento, in ambedue i casi, il numero delle cisti di *Giardia intestinalis* è ridotto di circa la metà (da 15-20 a 8-10 per campo microscopico), mentre le alterazioni strutturali sono egualmente evidenti. Degna di nota è la presenza delle cosiddette « cisti bleu », dapprima assenti, dimostrabili con l'ausilio del liquido iodo-iodurato di LUGOL. Queste sono considerate da WEZLER e ROEHNKE come cisti giovani, di recente formazione, mentre sarebbero cisti degenerate secondo DOBELL e O' CONNOR, e tale interpretazione è condivisa da SAUTET e CHAMPSAUR. Le mie osservazioni sembrano avvalorare quest'ultima ipotesi.

Dopo 48 ore i flagellati non sono più reperibili.

L'esame parassitologico delle feci permane tuttora negativo dopo 5 mesi dalla cura, che fu seguita da una rapida scomparsa della sintomatologia obbiettiva e subbiettiva.

Non si riscontrarono fenomeni tossici di nessun genere in ambedue i casi.

Le alterazioni morfologiche cui ho precedentemente accennato, osservabili anche « a fresco » ma meglio nei preparati fissati e colorati, possono essere distinte in quelle a carico del citoplasma ed in quelle a carico del nucleo. Le prime precedono in ordine di tempo e sono palesi già nei preparati « a fresco »; le seconde richiedono di preferenza l'esame di preparati colorati con l'Ematossilina ferrica.

Le alterazioni a carico del citoplasma consistono essenzialmente in un raggrinzamento del medesimo, che si raccoglie in un ammasso più o meno regolare verso uno dei poli dell'involucro cistico, occupando soltanto 1/3-1/6 dello spazio da esso circoscritto. Nell'interno di tale ammasso citoplasmatico si scorgono i residui più o meno bene conservati

delle normali formazioni, spesso invece esso non dimostra struttura alcuna.

Vero è che anche in condizioni normali, vale a dire anche in malati non trattati con alcun medicamento, si riscontrano spesso delle cisti il cui citoplasma non aderisce completamente alle pareti dell'involucro, circoscrivendo uno spazio semilunare od anulare più o meno ampio (forme precistiche di alcuni AA.), ma le differenze tra questi due ordini di fatti risultano evidenti dati soprattutto i seguenti caratteri:

a) per azione di derivati acridinici il citoplasma del flagellato perde la configurazione regolarmente ellittica o rotondeggiante, trasformandosi in un ammasso di forma irregolare che si raccoglie verso uno dei poli dell'involucro o che si trova libero nella cavità da questo delimitata;

b) lo spazio rimasto vuoto è più ampio che in condizioni normali ed è di forma irregolare;

c) la massa citoplasmatica così raggrinzita non dimostra o quasi, nel suo interno strutture definite: in particolar modo i nuclei per lo più non sono visibili; persistono più a lungo le formazioni siderofile filamentose, che finiscono pure per scomparire in seguito. Il più resistente appare invece l'involucro cistico.

Tale fenomeno di raggrinzamento citoplasmatico, con conseguente alterazione delle strutture nel citoplasma stesso contenute, e con degenerazione di questo, ricorda il processo noto in Citologia col termine di *plasmolisi*. Pertanto non è illecito supporre che le alterazioni citoplasmatiche ora descritte siano dipendenti, fra l'altro, da un modificato stato fisico-chimico della membrana cistica, con conseguente alterata permeabilità di questa.

L'alterazione riscontrata a carico dei nuclei traduce essenzialmente la dissoluzione della cromatina entro la membrana nucleare, con conseguente perdita della affinità cromatica dei nuclei stessi, e specialmente della loro siderofilia. Alla dissoluzione segue la diffusione della sostanza cromatica onde il nucleo si trasforma infine in una vescichetta vuota, limitata dalla sola membrana. Altre volte la cromatina scompare completamente forse per rottura della membrana nucleare. Questo complesso di fatti rientra nel fenomeno della cosiddetta *cariolisi*. Occorre notare che accanto a cisti note-

volmente alterate, ho costantemente osservato cisti tipiche e bene conservate, persistenti fino alla totale scomparsa dei parassiti.

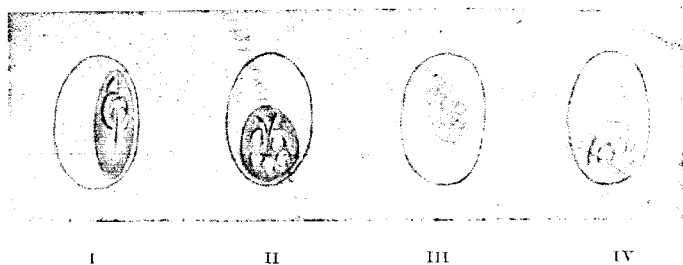


Fig. 1.

Cisti di *Giardia intestinalis* osservate durante il trattamento acridinico: 1) Cisti immatura osservata in liquido di LUGOL: la massa protoplasmatica è raggrinzita, ha perduto i contorni regolari ma conserva ancora i due nuclei; 2) Cisti osservata in liquido di LUGOL: il protoplasma è in avanzata degenerazione e non presenta nell'interno alcuna struttura; 3) Cisti colorata con Ematossilina ferrica: protoplasma represso; quattro nuclei scarsamente colorabili; 4) Cisti colorata con Ematossilina ferrica: protoplasma represso, allungato; i nuclei non sono colorabili e si presentano come immagini negative.

Conclusioni. — Per quanto le mie osservazioni si basino sopra una casistica per ora limitata solo a quattro casi di giardiasi intestinale in adulti, confermando i brillanti risultati terapeutici che si ottengono in questi casi coi derivati acridinici, credo di dovere segnalare soprattutto l'azione rapida e scevra da fenomeni di intolleranza esplicita dall'Acranil Bayer. Con tale medicamento già dopo 24 ore le cisti sono notevolmente ridotte di numero e morfologicamente alterate, scomparendo completamente e definitivamente dopo 48 ore dall'inizio del trattamento.

Il medicamento sembra agire direttamente sui flagellati che dapprima vengono notevolmente alterati, presentando raggrinzamento citoplasmatico e carioli, indi del tutto distrutti in seguito a processi litici.

AUTORIASSUNTO

L'A. riferisce sull'azione dei composti acridinici sulla *Giardia intestinalis* (LAMBL), e descrive le alterazioni morfologiche delle forme cistiche durante il trattamento con questi. Segnala in particolar modo l'azione rapida e ben tollerata dell'Acranil nella giardiasi intestinale cronica degli adulti.

BIBLIOGRAFIA

- ANGELINI G. — Sul recente metodo di cura della lamblasi con preparati acridinici tipo Atebrin. « Arch. Ital. mal. app. dig. », fasc. 2, 1939.
- Id. — Terapia della lamblasi con composti acridinici. « Arch. Ital. mal. app. dig. », fasc. 4, 1940.
- BACIGALUPO J. — Tratamiento radical de la Giardiasis. « El dia Medico », 1937.
- Id. — Tratamiento de la Giardiasis. « Rev. de la San. militar », 1937.
- Id. — Algunas consideraciones sobre Giardiasis y su tratamiento. « Arch. Argentín. de enfermed. del ap. digest. y de la nutrición. », 1937.
- Id. — Tratamiento de la Giardiasis y modo de acción del medicamento. « La Semana Med. », n. 50, 1937.
- Id. — Tratamiento de la Giardiasis. « VII Congr. A.M.P.A. », 1938.
- Id. — Traitement de la lamblase. « La Presse Méd. », n. 42, 1939.
- BRUMPT E. — Précis de Parasitologie. Ed. Masson, Paris, 1936.
- BRUMPT L. — Traitement expérimental de la lamblase. « Cpt. rend. Soc. de Biol. », vol. CXXIV, 1937.
- CHAMPSAUR A. F. — La Lamblase. Ed. Vigot, Paris, 1933.
- CROVERI P. — Sulla terapia della giardiasi. « Rass. intern. di Clin. e Terapia », vol. XVIII, 1937.
- DE MURO P. — Sull'Atebrin nella cura della giardiasi. « Com. alla Soc. Laziale di Gastr. ent. », 1938.
- DESCHIENS R. — Variations tinctoriales et morphologiques des Giardia intestinalis. « Bull. Soc. Path. exot. », n. 5, 1923.
- DOPLEIN F., REICHENOW E. — Lehrbuch der Protozoenkunde. Ed. Fischer, Jena, 1929.
- FALLA L. A. — El tratamiento de la lamblasi por la atebrina. Consideraciones clinicas y terapeuticas. « Vida Nueva », vol. XLI, 1938.
- GALLI VALERIO B. — La lamblase et son traitement par l'atebrine. « Schw. mediz. Woch. », bd. LXVII, 1937.
- GARIN C., BERNAY P. — Traitement de la lamblase par l'atebrine ou la quinacrine. « Soc. Méd. des Hôp. de Lyon », 1937.
- GRUENEIS P. — Zur Therapie der Lamblasis. « Wien Klin. Woch. », 1938.
- GROTT J. W. — Sull'efficacia dell'Atebrin nella cura della lamblasi. « Rinasc. Med. », vol. XII, 1938.
- RUORI P., BASNUEVO J., SOTOLONGO F., ANIDO V. — Tratamiento de la lamblasi por las sales de Acridina. « VII Congr. A.M.P.A. Sez. Parassit. », 1938.
- MAFFI M. — Therapeutica acridinica da infestação da Lamblia intestinalis. « Arch. de Biologia », vol. XXII, 1938.
- Id. — L'Atebrin nella cura della lamblasi intestinale. « Arch. Ital. Sc. Med. Col. e Parasitologia », vol. XX, 1939.
- MARTIN P. — Nouveau traitement de la lamblase par un derivé d'acridine. « Rev. Méd. Hyg. trop. », 1936-1937.
- Id. — Sur le nouveau traitement de la lamblase. « Marseille Méd. », vol. LXXIV, 1937.
- PENSO G. — Giardia intestinalis (Lambl) e giardiasi. Studio parassitologico e clinico. « Ann. di Med. nav. e col. », vol. II, 1929.
- SCOGNAMIGLIO G. — Effetti secondari tossici dell'atebrina (Rassegna sintetica). « Giorn. Ital. di Med. trop. », n. 1, 1938.
- TANGUY Y. — Traitement de la lamblase par la quinacrine. « Bull. Soc. Path. exot. », vol. XXX, 1937.
- TECON R. — « Journ. Belge de Gastro-entér. », 1937.
- TORRISI M. — L'Atebrin nella giardiasi. « Progr. di Terap. », n. 1-2, 1940.
- VANNI V. — Parassitosi intestinali. Ed. Vallecchi, Firenze, 1939.
- WENYON C. M. — Protozoology. Ed. Baillière, London, 1926.
- ZANCAN B. — Sulla terapia della giardiasi con preparati acridinici. « La Med. Internaz. », n. 2, 1940.
- ZANCAN B., MARENCO. — Terapia delle flagellosi intestinali. « Minerva Med. », n. 32, 1940.



