

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

Patologia. — *Ulteriori ricerche sulla possibile trasmissione delle tripanosomiasi animali nell'uomo: le reazioni biologiche nelle tripanosomiasi umane ed animali nella identificazione dei «virus»*⁽¹⁾.

Nota V del prof. dott. ALESSANDRO LANFRANCHI presentata dal Socio B. GRASSI.

Nelle Note precedenti⁽²⁾ ho riferiti i risultati ottenuti con le ricerche in merito al potere agglutinante, tripanolitico e protettore del mio siero, confrontando detti risultati con quelli antecedentemente ottenuti.

Alla risoluzione dell'importante problema dell'identificazione del *virus* del quale sono infetto, ho pensato si potesse portare un nuovo e interessante contributo mediante un nuovo indirizzo di ricerche.

Avendo rilevato come il mio siero, per quanto in grado diverso, sia protettore per tutti e tre i *virus Lanfranchii Evansi gambiense*, ho pensato di controllare se veramente detto potere fosse legato ad immuncorpi o non a sostanze che naturalmente si potessero trovare nel siero, tanto più che, come altrove ho detto, secondo un gran numero di autori, il siero umano normale può essere attivo contro il tripanosoma *Evansi*.

Non solo, ma con tali ricerche mi sono proposto di vedere se erano gli stessi anticorpi che, fissandosi e agendo sopra i diversi tripanosomi, impedivano a questi di infettare gli animali ai quali si inoculavano, o non si trattasse invece di anticorpi dotati di speciali affinità in rapporto a ciascun *virus*.

Sappiamo, per le ricerche di Mesnil e Brimont⁽³⁾, come, egualmente a quanto si osserva per i batterii, le sostanze protettrici contenute nel siero si fissano sopra i tripanosomi corrispondenti.

Tali autori hanno anche notato come la sostanza attiva del siero non si fissi tutta completamente sopra i tripanosomi; una piccola parte resterebbe ancora nel liquido.

Non è poi possibile ottenere una fissazione completa, anche in ragione del fatto che, data la fragilità dei tripanosomi *in vitro*, non si può prolungare di troppo il tempo del contatto.

Dato ciò, non vi è nessun dubbio che la risposta ai problemi sopra postimi poteva venire data dal seguente esperimento: mettere i singoli *virus*

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Patologia e Clinica medica veterinaria della R. Università di Bologna.

⁽²⁾ Al. Lanfranchi, *Ulteriori ricerche sulla possibile trasmissione delle tripanosomiasi animali nell'uomo*. Note I, II, III e IV (Rendiconti della R. Accademia dei Lincei, classe di scienze fisiche matematiche e naturali. 1916).

⁽³⁾ Mesnil e Brimont, Ann. Inst. Pasteur, 1909, pag. 129.

a contatto col mio siero, liberare in seguito il siero da tutti i tripanosomi, saggiare quindi di nuovo il suo potere protettore *vis-à-vis* rispettivamente, ed in ogni caso con i tre *virus*.

Ad un tale scopo ho fatto le seguenti ricerche.

Prima serie. — Il mio siero venne messo a contatto col *virus Lanfranchii*, nella proporzione-limite minima che per il potere protettore si era stabilita esser atta ad impedire l'infezione; quindi nel rapporto di $\frac{1}{4}$ di cc. di siero e $\frac{2}{10}$ di cc. della soluzione-campione di *virus*.

Tenni un tale rapporto per impedire che, usando una dose maggiore di siero, potessero in questo rimanere ancora degli anticorpi — non venendo tutti fissati — ed il siero possedere ancora un certo potere protettore.

Le diverse miscele che dovevano essere impiegate vennero messe quindi al termostato a 37 ove furono mantenute per un'ora; poichè sappiamo come dopo tale periodo i tripanosomi si alterino. In seguito furono centrifugate a 4000 giri al minuto per $\frac{1}{4}$ d'ora, il siero venendo indi aspirato, per capillarità, in lunghe e sottili pipette.

Detto siero venne quindi distribuito in tre provette nelle dosi di $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ e 1 cc., e, in seguito, in ciascuna di esse vennero aggiunti $\frac{2}{10}$ di cc. soluzione-campione, rispettivamente dei tre *virus Lanfranchii Evansi gambiense*. Mi sembrerebbe un di più indicare il perchè ho mantenuto tali proporzioni, ed in merito rimando al lavoro del Bordet⁽¹⁾ ove si parla della legge delle proporzioni variabili.

Dopo tre minuti di contatto, le miscele vennero inoculate in sei topolini.

Seconda serie. — Il mio siero venne messo a contatto col *virus Evansi* nelle proporzioni di $\frac{1}{2}$ cc. siero, $\frac{2}{10}$ cc. *virus*, e ciò perchè la dose di $\frac{1}{2}$ cc. si è visto essere la minima atta ad impedire l'infezione per un tale *virus*.

Per il restante la tecnica seguita fu identica a quella della serie prima, come identica fu anche per la serie che segue.

Terza serie. — In questa il siero fu posto a contatto per lo stesso periodo di tempo, nelle proporzioni di 1 cc. con $\frac{2}{10}$ di cc. soluzione-campione di *virus gambiense*; proporzione che io ho ritenuta essere indubbiamente quella atta ad impedire la infezione a *gambiense*.

Come controlli furono inoculati tre animali rispettivamente con uno dei tre *virus*, trattati nella dose tipo di $\frac{2}{10}$ cc. con 1 cc. di siero umano normale.

Riassumo nel quadro che segue i risultati ottenuti.

(1) Bordet, *Sur le mode d'action des antitoxines sur les toxines*. Ann. Inst. Pasteur, 1903, pag. 161.

GIORNI DELLA MALATTIA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
Siero-virus Lanfranchii	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
Siero-virus Evansi	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
Siero-virus gambiense	a	rr	r	nn	+																		
	a	rr	r	nn	+																		
	a	rr	r	nn	+																		
	a	rr	r	nn	+																		
Siero-virus Lanfranchii	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
Siero-virus Evansi	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
	a	a	rr	r	nn	+																	
Siero-virus gambiense	a	rr	r	nn	+																		
	a	rr	r	nn	+																		
	a	rr	r	nn	+																		
	a	rr	r	nn	+																		
Con- trolli	a	a	a	a	rr	rr	rr	a	rr	r	r	n	n	nn	nn	+							
	a	a	a	a	rr	rr	rr	rr	rr	a	a	a	a	rr	r	n	n	r	r	nn	nn	nn	+
	a	a	a	a	rr	rr	rr	rr	rr	a	a	a	a	rr	r	n	n	r	r	nn	nn	nn	+
	a	a	a	a	rr	rr	rr	rr	rr	a	a	a	a	rr	r	n	n	r	r	nn	nn	nn	+

a = trip. assenti; rr = trip. rarissimi; r = trip. rari; n = trip. numerosi; nn = trip. numerosissimi.

Dall'esame del quadro riassuntivo appare come i risultati non potrebbero essere più dimostrativi.

I tre virus hanno fissato rispettivamente e completamente gli anticorpi protettori nel mio siero.

Pur tuttavia, analizzando partitamente i risultati ottenuti, si ha modo di fare un qualche rilievo.

Prima cosa che si rileva: gli animali inoculati con il *virus gambiense* hanno avuto eguale decorso della infezione, in tutte e tre le serie sperimentali, e sono venuti a morte, si può dire, costantemente un giorno prima di tutti gli altri, tanto inoculati col *virus Lanfranchii* quanto con l'*Evansi*.

Questo primo fatto potrebbe stare a parlare, per quanto la differenza sia appena apprezzabile, per una maggiore specificità dei pochi anticorpi (che, come si è detto, rimangono nel siero) rispetto a tali due *virus*; e ciò riavvicinerebbe ancora una volta il *virus Lanfranchii* più all'*Evansi* che non al *gambiense*.

Un altro rilievo appare, in riguardo al comportamento dei *virus Lanfranchii* ed *Evansi* rispetto al *gambiense*, allorchè i primi due sono stati fatti agire in miscela con siero prima sottoposto a contatto con quest'ultimo *virus*. Infatti si nota come uno degli animali inoculati col *virus Lanfranchii* sia venuto a morte con circa dodici ore di ritardo; ed un altro, inoculato con l'*Evansi*, con ventiquattro ore, in relazione a tutti gli altri soggetti che avevano ricevuto gli stessi *virus*.

Sono piccole differenze, alle quali non si può dare un grande valore; rappresentano però dei dati, che, uniti a tutti gli altri, vengono ancor più a dimostrare come il *virus Lanfranchii* sia più da riportarsi all'*Evansi* che non al *gambiense*.

Con le presenti ricerche viene ad essere allontanato anche il dubbio, per quelle già eseguite in merito al potere protettore del siero, della possibile influenza dell'attività del siero umano sopra il trip. *Evansi*: fatto che può esistere anche per alcune varietà di *gambiense*, come risulta dalle ultime ricerche del Mesnil.

Infatti sappiamo che le sostanze attive dotate di proprietà protettrice del siero normale non si fissano mai sopra i tripanosomi.

L'importanza però veramente grande delle presenti ricerche e dei risultati ottenuti è costituita dal fatto sul quale ho già richiamato l'attenzione: che cioè: *i tre virus hanno fissato rispettivamente e completamente gli anticorpi protettori contenuti nel mio siero.*

Orbene: o noi togliamo ogni valore al potere protettore (valore che da tutti viene ammesso, tanto da costituire tale ricerca uno dei migliori mezzi sierodiagnostici per l'identificazione di un dato tripanosoma), o diversamente dobbiamo ritenere — a parte le piccole differenze notate ed interpretate — che, dato che gli anticorpi protettori contenuti nel mio siero sono stati fissati

completamente e rispettivamente dai tre antigeni impiegati, essi, trip. *Evansi Lanfranchii gambiense*, sono scambievolmente da identificarsi, e quindi dobbiamo ammettere che il trip. *gambiense* sia da riportarsi all' *Evansi*.

Molto probabilmente — in modo corrispondente a quanto gli scienziati inglesi hanno dimostrato per i rapporti intercedenti fra i trip. *Brucey* e *rodesiense* — il primo, trip. *gambiense*, si è originato dal secondo, trip. *Evansi*.

Dissi già come ⁽¹⁾, in ipotesi, si possa ammettere la monogenesi di tutti i *virus* tripanosomiaci, e che i tripanosomi patogeni attuali riconoscano la loro origine in quelli non patogeni, per il fatto di essersi trovati in cambiate condizioni che li hanno resi atti ad acquistare un tale potere.

A queste considerazioni sono giunto anche per i risultati ottenuti con altre esperienze, che in seguito renderò note.

⁽¹⁾ Al. Lanfranchi, *Sulla possibile trasmissione delle tripanosomiasi nell'uomo*. Bull. delle scienze mediche. Bologna, anno LXXXVI, serie 9^a, 1915.

E. M.