

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIV.

1917

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVI.

2° SEMESTRE.



ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1917

di acqua ossigenata. Dall'ossidazione con acqua di bromo ho avuto risultati che hanno messo in luce la costituzione del composto.

Gr. 15 di esso si sciolgono in cc. 200 di acqua e alla soluzione fredda si aggiungono a goccia a goccia e agitando, cc. 1,8 di bromo (5 at. circa). La soluzione, dopo una mezza giornata, è totalmente scolorata; allora si concentra a bagno-maria sino a che principia a formarsi un precipitato. Si fa raffreddare e si filtra. Il precipitato raccolto si scioglie in un poco di acqua e si estrae con etere la soluzione: in questa rimane del bromuro ammonico; nell'etere passa una sostanza bianca, di reazione acida, la quale, purificata per cristallizzazione da acqua, si riconosce come acido fumarico: difatti non resiste alla prova di Baeyer, sublima e riscaldata in tubicino chiuso fonde oltre 280°.

La soluzione primitiva d'onde si è separato il precipitato sopradetto, si estrae con etere, il quale asporta dell'acido ossalico e una sostanza che, cristallizzata più volte dall'acqua, fonde verso 150°. Contiene bromo; riscaldata con alcali libera ammoniaca; sublima in aghetti incolori. Tali caratteri la fanno riconoscere per l'imide monobromo-maleica; difatti, il confronto con un campione di tale sostanza, preparata da l'imide succinica e bromo, riesce positivo.

Patologia. — Sulle proprietà dei sieri di animali iperimmunizzati contro la morva e sulla scelta degli animali per la preparazione di sieri ricchi in anticorpi antimorvosi ⁽¹⁾. Nota del Ten. Col. dott. E. BERTETTI e del Magg. prof. G. FINZI (Direttori), pres. dal Socio B. GRASSI ⁽²⁾.

Quantunque diversi tentativi di preparazione di sieri antimorvosi siano stati fatti in questi ultimi anni, nessun ricercatore ha tentato di ottenere l'iperimmunizzazione sistematica, comparativa di soggetti più o meno recettivi o refrattari all'infezione morvosa sia mediante bacilli virulentissimi associati o no a prodotti tossici dei bacilli morvosi stessi.

La preparazione di sieri ricchi di anticorpi antimorvosi fu da noi tentata sull'*asino*, animale eminentemente recettivo alla morva in cui l'infezione naturale e sperimentale assume di solito andamento acuto; sul *mulo*, dove l'infezione morvosa assume generalmente un decorso subacuto (per quanto relativamente frequenti siano in questo animale i casi di morva a

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nel « laboratorio di ricerche sulla morva », Intendenza 3^a Armata.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 19 agosto 1917.

decorso acuto e non rari quelli a decorso cronico); sul *cavallo* nel quale generalmente l'infezione morvosa è a decorso cronico e sul *bue* naturalmente refrattario all'infezione morvosa per una forma di immunità naturale *assoluta*, derivante da una particolare attitudine difensiva dell'organismo verso il *bacillus mallei* ed i veleni da esso prodotti. E su questa immunità naturale, *assoluta* dei bovini di fronte all'infezione morvosa noi insistiamo, d'accordo con la maggioranza dei ricercatori, malgrado le recenti constatazioni di Riegler e Ciuca (Archiva Veterinara 1915) e Meloni (Clinica veterinaria 1912).

*
* *

Noi vogliamo senz'altro esporre il piano delle nostre esperienze:

Immunizzazione con bacilli uccisi con sostanze chimiche.

Il 30 agosto 1916 un cavallo (n. 75) riceve in vena una mezza cultura in agar, di 7-8 giorni, di bacilli morvosi uccisi con una conveniente soluzione di bieloruro di mercurio. Le iniezioni vengono in seguito fatte con dosi crescenti di bacilli fino ad inoculare, alla 12^a iniezione, cinque culture in agar di bacilli sempre modificati con lo stesso procedimento. Le prime iniezioni sono ravvicinate e in seguito vengono regolarmente fatte ogni cinque giorni fino a tutto gennaio 1917 ed ogni 12-13 giorni dal gennaio a tutt'oggi.

Le iniezioni vengono in generale bene tollerate; gli sbalzi termini non sono eccessivi, le reazioni locali, ben manifeste, persistono per 5-8 giorni, le reazioni generali si risolvono in due o tre giorni.

Immunizzazione con bacilli uccisi col calore.

Il 28 agosto 1916 un cavallo (n. 49), un mulo (n. 74) ed un asino (n. 73) vengono trattati come il cavallo n. 75 salvo però essere immunizzati con bacilli morvosi uccisi col calore.

Le iniezioni vengono anche in questi soggetti abbastanza bene tollerate per quanto i fenomeni generali siano più manifesti che non nel caso precedente. Violente reazioni dovute ad uno stato di speciale ipersensibilità ci costringono a ricorrere presto ad iniezioni sottocutanee che frequentemente sottintendono infiltrati dolorosi e talora ascessi asettici.

Con questi il 27 settembre viene trattato un cavallo (n. 5) con culture in brodo di cinque-sei giorni di età uccise col calore. Il trattamento è iniziato con 5 c.c. di cultura per via endovenosa e già alla 9^a iniezione si

iniettano 30 c.c. di cultura. Però siamo ancora costretti di abbandonare la via sanguigna per ricorrere ad iniezioni sottocutanee che sono fatte regolarmente ogni 5 giorni a tutto il gennaio 1917 ed ogni 12-13 giorni dal gennaio a tutt'oggi.

*Immunizzazione con bacilli uccisi col calore
e con tossina malleinica.*

Al 29 luglio 1916 due cavalli (n. 48) (n. 50) ed un asino (n. 70) vengono trattati con bacilli uccisi col calore e con tossina-malleinica da noi preparata con speciale procedimento.

Il cavallo n. 48 e l'asino (n. 70) ricevono in vena i bacilli uccisi provenienti da culture in agar. Il cavallo n. 50 culture in brodo pure uccise col calore più tossino-malleina alla dose da 3 c.c. a 15 c.c.

*Immunizzazione di bovini con bacilli uccisi col calore
e con bacilli virulenti.*

Il giorno 3 dicembre 1916 si inizia l'immunizzazione per via sottocutanea di due bovini: *bianco* e *rosso*. Il primo viene iniettato con bacilli virulentissimi coltivati su agar; il secondo con culture dello stesso ceppo coltivate in agar uccise col calore (1-6 abbondanti patine). Le iniezioni vengono regolarmente fatte ogni cinque giorni da 8 mesi circa ed i bovini sopportano benissimo il trattamento immunizzante. La reazione locale e generale conseguente alle iniezioni di bacilli virulenti è di media intensità. Talune volte nel bue *bianco* in corrispondenza al punto di iniezione, vediamo formarsi un ascesso dal quale facilmente si isola il bacillo della morva.

* * *

Ebbene oggi i nostri soggetti in trattamento forniscono in generale un siero dotato di qualità specifiche veramente interessanti:

Proprietà *precipitanti* molto energiche di fronte alle diverse malleine brute diluite in soluzione fisiologica ed ai filtrati di culture di morva.

Se si mescolano 5-10 volumi di siero con un volume di soluzione di malleina bruta diluita ad un quinto, un decimo in acqua distillata o soluzione fisiologica e si portano i miscugli alla temperatura di 37°, dopo 15 minuti si nota evidentissima la precipitazione e conseguente sedimentazione dei numerosissimi e grossi fiocchi prima in sospensione. Dalle nostre esperienze risultò evidentissimo che un eccesso di *precipitogeno* (malleine, filtrati) limita e impedisce la formazione del precipitato.

I sieri da noi ottenuti si dimostrano ancora dotati di proprietà *agglutinanti* notevolmente manifeste e a diluizioni considerevolissime (1:10000 — 1:20000). La prova del riscaldamento ci convinse della natura *specifica* delle agglutinine dei nostri sieri (agglutinine da immunizzazione).

Così pure contengono in abbondanza una *sensibilizzatrice* specifica facilmente rilevabile sia di fronte al *bacillus mallei*, sia di fronte ai diversi estratti bacillari.

Abbiamo detto più sopra che « i nostri soggetti in trattamento forniscono in generale..... »; infatti non tutti gli animali in trattamento fornirono un siero egualmente attivo. Quelli inoculati con culture in brodo o con culture in agar del *b. mallei* e malleina diedero sieri per nulla affatto attivi. Di più gli animali trattati con bacilli coltivati su agar non diedero tutti, indipendentemente dal procedimento di inattivazione impiegato, un siero ugualmente attivo. Se noi dovessimo infatti classificare con numeri da uno al dieci, l'attività *precipitante, agglutinante e sensibilizzante* dei sieri da noi ottenuti, dovremmo classificare con 10 il siero datoci dai bovini, con 8 il siero datoci dai cavalli, con 4 quello del mulo, con 1-2 quello dell'asino. E la capacità di fissare l'alessina, di precipitare i veleni malleinici e di agglutinare i diversi ceppi del *b. mallei* è perfettamente proporzionale per ogni siero.

CONCLUDENDO DUNQUE:

1) È possibile ottenere sui diversi animali (bue, cavallo, mulo, asino) sieri antimorvosi dotati di energiche proprietà precipitanti di fronte alle diverse malleine ed ai filtrati di culture morvose, di alto potere agglutinante e contenenti sensibilizzatrici specifiche facilmente rilevabili sia se fatti agire di fronte a bacilli morvosi, sia di fronte ai diversi estratti bacillari.

2) L'esistenza di una maggior o minore disposizione individuale alla infezione morvosa influisce in modo inversamente proporzionale nella produzione di anticorpi antimorvosi. Infatti questi anticorpi, che traducono il lavoro che l'organismo ha svolto nell'immunizzazione, sono più abbondanti nel siero di bue per diminuire progressivamente nel cavallo, mulo e asino.

3) Lo stato di refrattarietà dei bovini di fronte al bacillo della morva non deve, secondo noi, considerarsi in rapporto ad una mancanza di affinità fra il *bacillus mallei* e gli elementi cellulari dell'organismo giacchè questi, per le nostre esperienze, restano indubbiamente ed attivamente impressionati dal *b. mallei*.

4) È controindicato trattare animali con culture in brodo o con culture in agar di virus morvoso più malleina allo scopo di avere sieri com-

pleti giacchè i prodotti solubili del *bacillus mallei* contenuti in sospensione nelle culture in brodo o le malleine brute iniettate essendo solo forse lentamente modificate o finiscono per neutralizzare in vivo gli anticorpi provocati dai corpi microbici iniettati, oppure il gruppo aptoforo del precipitogeno assorbe e lega la precipitina.

5) Le precipitine contenute nei nostri sieri antimorvosi sono termolabili.

Le temperature fra 55-60° distruggono il gruppo funzionale, precipitoforo, attivo delle nostre precipitine che vengono trasformate in precipitoidi.

Mettiamo volentieri a disposizione dei ricercatori i nostri sieri antimorvosi.

E. M.
