

Moix B73 / 27

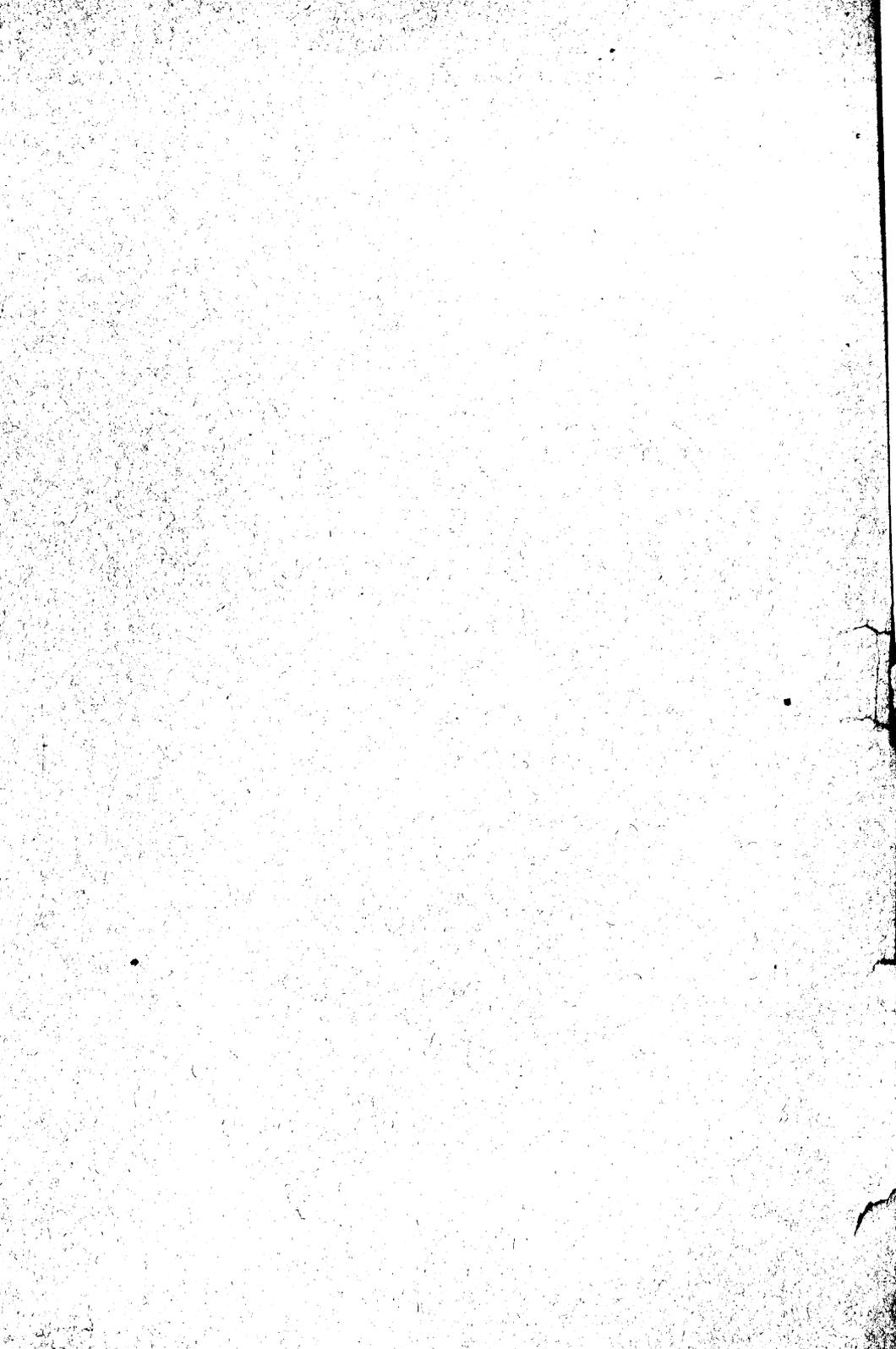
F. MAGRASSI, F. GALLI, L. SCALFI, G. GIORDANO

Evoluzione stagionale della malattia da ultravirus, isolata nel coniglio in seguito all'iniezione di filtrati ottenuti da bacilli tifici virulenti: sintesi dei risultati tratti dalle esperienze svolte nel corso di 4 anni.

Estratto dal BOLLETTINO E ATTI
DELLA R. ACCADEMIA MEDICA DI ROMA
Anno LXVIII (1942-XX) - Fasc. 6



DITTA TIPOGRAFIA CUGGANI
ROMA - VIA DELLA PACE, 35
1942-XX

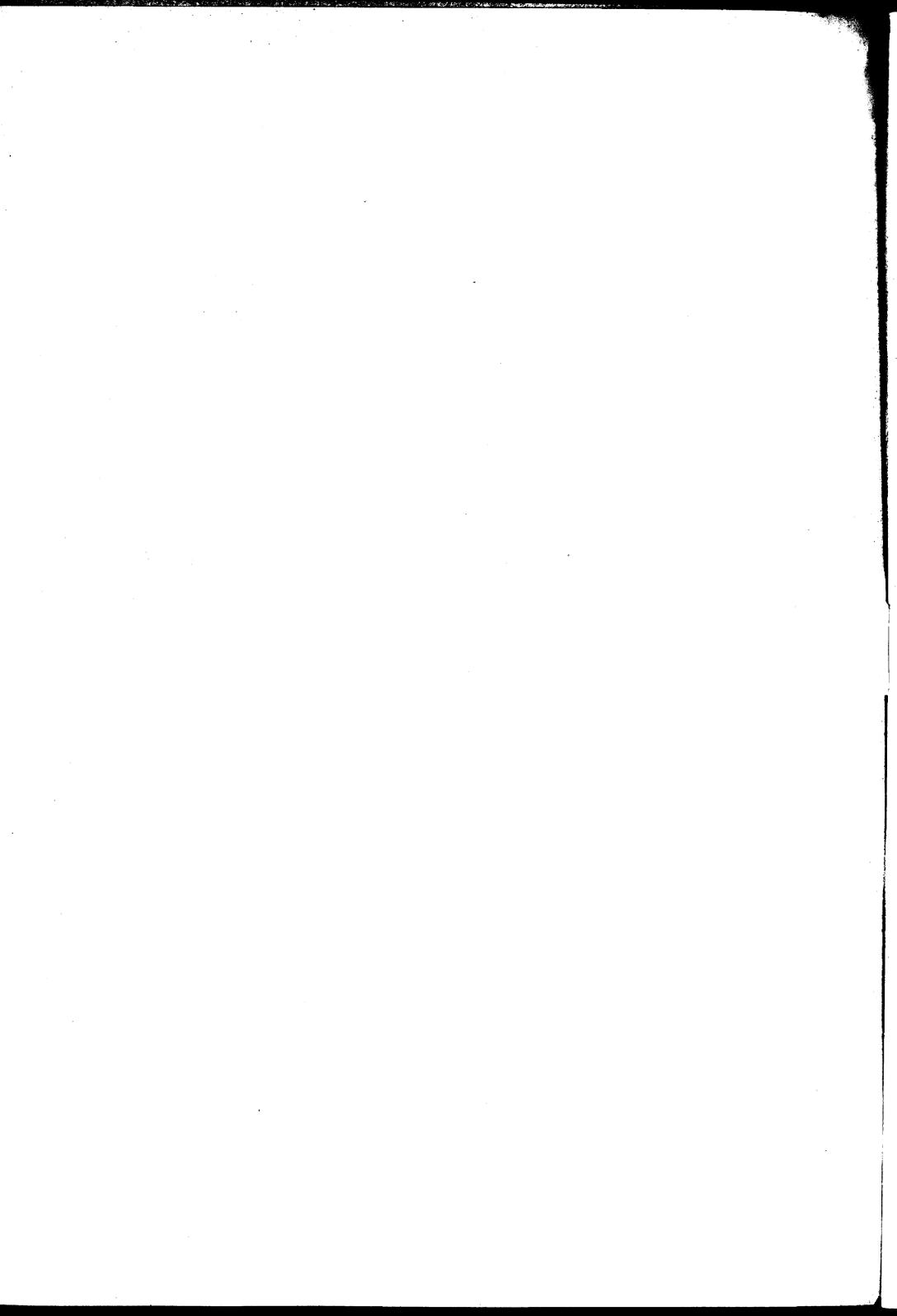


ISTITUTO DI CLINICA MEDICA GENERALE DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: PROF. C. FRUGONI

F. MAGRASSI, F. GALLI, L. SCALFI, E G. GIORDANO

Evoluzione stagionale della malattia da ultravirus, isolata
nel coniglio in seguito all'iniezione di filtrati ottenuti
da bacilli tifici virulenti: sintesi dei risultati tratti
dalle esperienze svolte nel corso di 4 anni.

*Comunicazione alla Seduta del 19 giugno 1942-XX
della Reale Accademia Medica di Roma*



Evoluzione stagionale della malattia da ultravirus, isolata nel coniglio in seguito all'iniezione di filtrati ottenuti da bacilli tifici virulenti: sintesi dei risultati tratti dalle esperienze svolte nel corso di 4 anni. *

Nei nostri lavori precedenti [1, 2, 3] abbiamo descritto ed ampiamente commentato l'isolamento di un ultravirus patogeno da conigli iniettati con filtrati batteriologicamente sterili ottenuti da bacilli tifici virulenti: l'isolamento dell'agente patogeno riuscì ripetutamente, partendo da ceppi tifici diversi, in esperienze eseguite nel maggio-luglio 1938 e nell'aprile-giugno 1939. In questi stessi lavori [1, 2, 3] abbiamo anche accennato a risultati negativi ottenuti invece nei tentativi di isolamento del virus eseguiti nel settembre-ottobre 1938 e nel luglio-agosto 1939: e nell'ipotesi che la differenza nell'andamento delle esperienze, a seconda del diverso periodo dell'anno in cui vennero eseguite, fosse da ascrivere all'influenza di fattori stagionali sulla recettività dell'animale al virus, ci proponemmo di condurre ricerche sistematiche in questo senso, onde poter precisare se anche nella malattia da ultravirus da noi descritta potesse valere quell'evoluzione stagionale che sappiamo essere presente per altri diversi tipi di infezioni da ultravirus.

* * *

Riportiamo qui i risultati ottenuti nelle esperienze eseguite dal settembre 1939 fino all'aprile 1942: fu seguita costantemente la tecnica già da noi descritta, partendo da un certo numero di ceppi tifici in una successione di esperienze tale da poter escludere che i diversi risultati positivi o negativi fossero anche ascrivibili a modificazioni eventualmente intervenute nel ceppo batterico usato per la preparazione del filtrato di partenza.

* Ricerche eseguite sotto gli auspici e col contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche, e con contributo della Direzione di Sanità.

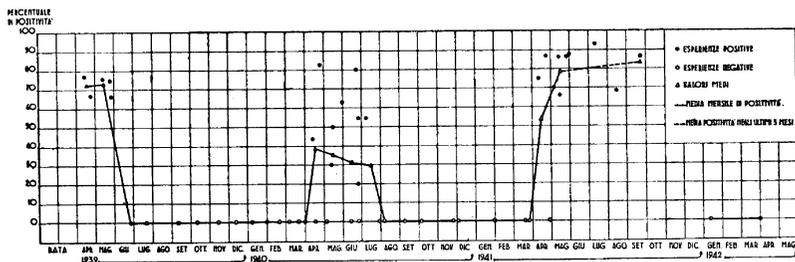
In ciascuna esperienza furono inoculati col filtrato almeno 4 animali, di cui 2 con inoculazione contemporanea endocerebrale ed endoperitoneale, e 2 con semplice inoculazione endocerebrale: vennero considerate come negative quelle esperienze in cui o gli animali non vennero a morte, o, se venuti a morte nei primi giorni dopo l'iniezione del filtrato, il passaggio delle sospensioni di tessuto cerebrale o splenico in altri conigli non determinò alcun segno di malattia; positive invece furono ritenute quelle esperienze in cui la iniezione nell'animale di passaggio delle sospensioni di cervello o di milza, o dell'essudato peritoneale ricavati dal coniglio iniettato col filtrato tifico e venuto a morte, provocò l'insorgenza di uno stato di malattia che, fosse esse seguito o no da morte, presentasse i caratteri già da noi descritti: e cioè forte dimagrimento, accompagnato per lo più da manifestazioni diarroiche, quale espressione di un'enterocolite catarrale, durante la quale si avvera una diffusione del *b. coli* a quei tratti dell'intestino (duodeno e ileo) che ne sono normalmente privi, e talora anche ad altri distretti dell'organismo. Assicurata la positività dell'esperienza attraverso i risultati ottenuti nel primo passaggio, in alcuni casi i passaggi furono sospesi dopo il primo o i successivi, in altre esperienze i passaggi furono continuati fino all'esaurimento della positività. Di ciascun animale venuto a morte furono eseguiti un'accurata autopsia ed un completo studio batteriologico-culturale, secondo lo stesso schema dettagliatamente riportato nei nostri lavori precedenti [1, 2, 3].

Dal settembre 1939 all'aprile 1942, durante 31 mesi, furono compiute 46 esperienze, scaglionate nel tempo così da far cadere in genere una o più esperienze in un mese; in queste furono impiegati 690 animali. Solo da una così larga statistica si poteva infatti sperare di trarre risultati chiaramente interpretabili. Eccone in sintesi l'esposizione.

Nelle 10 esperienze eseguite dal 13 settembre 1939 al 29 marzo 1940, usando il ceppo tifico « Watson » e il ceppo « Ciocci », ambedue dotati di antigene Vi, i risultati furono costantemente negativi. La prima esperienza positiva cadde il 9 aprile 1940 (si può qui ricordare che nell'anno 1939 la prima esperienza seguita da risultati chiaramente positivi fu eseguita il 14 aprile): a cominciare da questa furono eseguite fino al luglio 15 esperienze, partendo da 4 diversi ceppi tifici dotati di antigene Vi (Watson, Baroni, Taverna, D'Attilio). Delle 15 esperienze, 9 diedero risultati più o meno intensamente positivi, e queste si presentarono, indipendentemente dal ceppo tifico di partenza, irregolarmente alternate con 6 negative. Dopo l'ultima esperienza positiva, eseguita il 3 luglio 1940, furono fatte dal 2 agosto 1940 fino al 20 marzo 1941 altre 10 esperienze, partendo dai ceppi tifici Watson e D'Attilio, già precedentemente usati,

e dai ceppi Lupardelli e Bartoli di fresco isolamento: queste risultarono tutte negative.

Nel 1941 la prima esperienza positiva ebbe inizio il 10 aprile; successivamente, dall'aprile 1941 al settembre dello stesso anno, furono eseguite 10 esperienze partendo da 4 diversi ceppi tifici dotati di antigene Vi (Watson, D'Attilio, Lupardelli, Napoleoni); di esse, 9 riuscirono nettamente positive. Dopo l'ultima esperienza positiva, iniziata il 17 settembre, fummo obbligati per ragioni contingenti ad un periodo di so-



Schema grafico riassuntivo delle esperienze condotte negli anni 1939-1942.

sospensione delle esperienze: negative risultarono successivamente le 2 esperienze eseguite rispettivamente l'11 gennaio e il 31 marzo 1942.

Nel complesso quindi, delle 46 esperienze eseguite durante 31 mesi, 9 furono positive nel 1940, e queste caddero tutte nel periodo compreso tra l'aprile e il luglio 1940, e 9 furono positive nel 1941, cadendo queste in un periodo compreso tra l'aprile e il settembre (v. grafica). Ci sembra perciò, che se a questi risultati si aggiungono anche quelli ottenuti nel 1938 e nel 1939, i quali perfettamente concordano con i primi per ciò che riguarda i limiti stagionali entro i quali essi furono trovati positivi, si ricava netta l'impressione (v. grafica) che la possibilità di ottenere dal coniglio l'ultravirus patogeno da noi descritto sia nettamente legata ad un influenzamento stagionale, che è, come spesso accade in questo ordine di fenomeni, difficilmente precisabile sia nella sua natura che nel suo punto di attacco.

Analizzando poi da vicino i risultati ottenuti nel 1940 e nel 1941 si constata che il grado della positività nel 1941, mentre è paragonabile a quello osservato nel 1939, è invece assai più elevato che nel 1940, sia per ciò che riguarda la percentuale di positività delle diverse esperienze ese-

guita nello stesso periodo dell'anno, sia per il numero degli animali che presentarono una manifesta malattia e per il numero di quelli che vennero a morte in seguito alla malattia stessa, sia per il numero di passaggi in serie che poterono essere eseguiti; si deve inoltre aggiungere che a una maggiore percentuale e a una maggiore intensità di reperti positivi si accompagnò nel 1941 anche una maggiore estensione dei limiti stagionali entro i quali tali reperti positivi vennero a cadere (v. grafica 1). Ecco come si riduce in cifre la differenza nei reperti positivi ottenuti nel 1940 e nel 1941.

Nel 1940: massima fu la positività degli animali inoculati direttamente col filtrato tifico [su 31 animali inoculati 24 (=77,4 %) presentarono la malattia mortale] e in quelli di primo passaggio [su 56 animali iniettati, 35 (=62,5 %) presentarono un sicuro stato di malattia, che in 24 (=42,8 %) fu seguito da morte]. Nelle 6 esperienze in cui i passaggi furono ulteriormente proseguiti, la positività andò ulteriormente decrescendo: infatti al secondo passaggio su 30 animali iniettati, 13 (=43,3 %) si ammalarono, e 9 (=30 %) vennero a morte, ed al III passaggio su 10, soltanto 2 (=20 %) si ammalarono e vennero a morte. Nelle 3 esperienze in cui fu raggiunto l'esaurimento della positività, questo fu ottenuto in 2 già al secondo passaggio ed in una al terzo.

Nel 1941 *, su 46 animali iniettati col filtrato tifico, 31 (=67,3 %) presentarono la malattia mortale. Durante i passaggi successivi, vennero a morte in seguito a un manifesto stato di malattia: nel primo passaggio su 57 animali iniettati, 49 (=85,9 %); nel secondo passaggio su 35 animali iniettati, 30 (=85,7 %); nel terzo passaggio su 30 animali iniettati, 27 (=90 %); nel quarto passaggio su 22 animali iniettati, 16 (=72,7 %); nel quinto passaggio su 16 animali iniettati, 12 (=75 %); nel sesto passaggio su 10 animali iniettati, 7 (=70 %); nel settimo passaggio, su 3 animali iniettati, 3; nell'ottavo passaggio, su 3 animali iniettati, 2. Deve essere sottolineato che in una sola esperienza i passaggi furono interrotti per spontaneo esaurimento al VI passaggio; in tutte le altre i passaggi furono interrotti perdurando la positività, rispettivamente in 3 dopo il primo passaggio, in una dopo il secondo, in una dopo il IV, in 2 dopo il VI, in una dopo l'VIII. Risulta dalle cifre percentuali sopra riferite che, in armonia con la maggiore intensità del grado

* Poichè in questo gruppo di esperienze la malattia, quando si presentò, fu quasi sempre mortale, verrà tenuto conto nelle percentuali per semplicità solo di questa evenienza.

di positività delle esperienze nel loro insieme (v. sopra), avutasi nel 1941, anche la progressiva diminuzione della positività col succedersi dei passaggi in serie fu in esse meno intensa che negli anni precedenti.

In base a questi dati si può anche pensare che possano esistere, in rapporto al numero e all'intensità dei reperti positivi, oltre alle oscillazioni stagionali sopra accennate, che ciascun anno si ripetono con relativa costanza, anche oscillazioni a periodo più ampio esprimenti una variabilità da anno ad anno.

È noto quanto complesso ed oscuro sia ancor oggi il problema delle oscillazioni periodiche delle endemie: ma non si può certo negare che l'influenza esercitata da fattori stagionali o da ancor più oscuri fattori annuali non si esplichino, attraverso meccanismi molteplici, oltre che sulle condizioni ambientali che favoriscono o determinano il contagio (in genere più facilmente analizzabili), anche sull'organismo che è sede dell'infezione, o sul germe che dell'infezione è l'agente. Su quest'ultimo aspetto del problema le nozioni sono ancora molto limitate e confuse; ma è appunto in questo campo che possono rappresentare indizi preziosi le osservazioni che si possono raccogliere nelle ricerche sperimentali, nelle quali in genere riesce più facile la semplificazione e l'analisi delle diverse condizioni. Basta a dimostrarlo l'esempio della sensibilità ai veleni batterici, che nell'animale da esperimento può variare notevolmente nel corso dell'anno; è ad es. nozione comune che la dose mortale di tossina difterica per la cavia non è uguale nelle diverse stagioni, avendosi un massimo di sensibilità proprio nei mesi in cui l'infezione difterica colpisce più spesso l'uomo (SÜDMERSEN e GLENNY [4]). Nel campo degli ultravirus, estremamente significativo è l'esempio del mixoma del coniglio; anche di fronte a questo virus, isolato proprio dal coniglio e per il quale il coniglio rappresenta l'ospite più recettivo, furono osservate in questo animale modificazioni stagionali di recettività, essendo stato constatato da DI MACCO e collaboratori [5] che in determinate stagioni (estate) il coniglio si dimostra notevolmente più resistente verso l'inoculazione sperimentale del virus. Le osservazioni da noi raccolte, per la malattia da ultravirus qui descritta, non rappresentano perciò un reperto di eccezione: e noi crediamo che le variazioni stagionali osservate nella positività delle nostre esperienze siano da ricondurre a fenomeni dello stesso ordine di quelli sopra citati.

Per quanto riguarda le esperienze positive ottenute nel 1940 e 1941, i reperti anatomico-patologici ricavati dal cospicuo materiale sperimentale ripeterono quelli già da noi descritti nei precedenti lavori; possiamo solo aggiungere che in una percentuale di casi non elevata si notò nel fegato la presenza di nodulini miliariformi, che all'esame istologico risultarono costituiti da un tessuto granulomatoso rappresentato da granulociti polinucleati in minoranza, commisti ad elementi istioidi e linfo-citari. Tali noduli granulomatosi, in una estesa serie di controlli, furono però trovati anche in alcuni animali normali: crediamo perciò di non poter attribuire ad essi il significato di lesioni ascrivibili specificamente all'ultravirus da noi isolato.

Anche lo studio batteriologico-culturale di tutti gli animali venuti a morte riprodusse esattamente i risultati ottenuti nelle esperienze degli anni precedenti. Dei 131 animali studiati, si ebbe in 121 (=92,3 %) una abbondante diffusione del *b. coli* ai distretti intestinali (duodeno, ileo) nei quali esso normalmente o è assente o è in scarsissima quantità; in 9 (=6,8 %) il *b. coli* fu trovato presente in tali distretti in quantità paragonabile a quella che si può osservare anche nel normale; in 1 soltanto il *b. coli* fu trovato assente dall'intestino tenue. Inoltre in 36 animali (=27,4 %) fu trovata una più generale diffusione del *b. coli* talora limitata all'essudato peritoneale, talora estesa al sangue e ad altri organi.

* * *

Tra i diversi problemi sorti dallo studio dello stesso materiale sperimentale, ci parve di grande interesse quello riguardante il *b. coli*: per la costanza con cui tale germe, nel corso della malattia da ultravirus isolata, si moltiplica e si diffonde nei tratti intestinali che ne sono normalmente privi, e per la frequenza con cui tale diffusione si estende anche al di fuori dell'apparato intestinale, si può infatti fondatamente sospettare che alla base di questa sua esaltazione di attività stia un aumento nella virulenza del germe, in funzione dell'azione diretta o indiretta dell'ultravirus, che è causa prima della malattia. A conferire maggior vigore a questa ipotesi stanno anche le analogie affioranti dalle conoscenze che possediamo sui rapporti che intercorrono tra virulenza del *b. coli* e infezione da bacillo tifico: conoscenze alle quali hanno portato un contributo fondamentale le ricerche di SANARELLI [6], che pur essendo ormai lontane nel tempo, per la genialità che le ha pervase nella loro impostazione, e per la ricchezza e l'acutezza di osservazioni che da esse scaturirono, continuano ad essere sempre giovani ed attuali e feconde di idee

e di scintille di novità. Lo studio della virulenza del *b. coli*, isolato dal sangue e dall'essudato peritoneale di animali morti in seguito alla malattia scatenata dal filtrato tifico, fu intrapreso da due di noi (MAGRASSI e GIORDANO) e su di esso sarà riferito a parte, quando le ricerche ancora attualmente in corso si saranno andate completando. Per ora accenniamo soltanto al fatto che i ceppi finora studiati hanno dimostrato di possedere una virulenza altissima, cosicchè iniettati in minime dosi (fino a 5-10 milioni) per via endoperitoneale, uccidono il coniglio in 12-24 ore: tale virulenza è nel germe evidentemente legata ad una sua straordinaria capacità moltiplicativa ed invasiva. Già negli animali morti dopo poche ore (8-12 ore) l'essudato peritoneale è, in quasi totale assenza di cellule, costituito esclusivamente da una sospensione densissima (fino a 5-10 miliardi per cc.) di *b. coli*, i quali si trovano anche in grandissima quantità diffusi a tutto il resto dell'organismo (1 goccia di sangue da cuore distesa in superficie su agar può dare una patina continua di *b. coli*). A seconda dei ceppi, questa virulenza può perdersi rapidamente nelle subculture *in vitro*, o può a lungo conservarsi. Questi ultimi ceppi furono utilizzati per lo studio della particolare fisionomia antigenica di cui questi « *b. coli virulenti* » sono dotati (MAGRASSI e GIUNCHI): anche su queste ricerche ancora in corso verrà in seguito separatamente riferito. Accenniamo qui solo al fatto che nella struttura antigenica di questi « *b. coli virulenti* » non entra affatto l'antigene VI, che in recentissime ricerche di KAUFFMANN [7] fu trovato essere presente anche in alcuni ceppi di *b. coli*. Intanto però deve essere messo in rilievo per la sua significativa importanza, il fatto seguente: partendo da un filtrato batteriologicamente sterile, ottenuto da un essudato peritoneale di coniglio iniettato con uno dei ceppi di « *b. coli virulento* », isolati in seguito all'iniezione del filtrato tifico, potè essere provocata la malattia da ultravirus, trasmissibile in serie, del tutto uguale a quella che si ottiene partendo dal filtrato tifico. Un'esperienza di questo tipo fu compiuta nell'aprile 1939 (v. MAGRASSI, GALLI e SCALFI [3]) e seguita fino al VI passaggio in parallelo con i passaggi derivanti dagli animali morti in seguito all'iniezione del filtrato tifico; un'altra esperienza del tutto analoga, derivata da un altro ceppo di « *b. coli virulento* » fu eseguita nel maggio 1941, con identico risultato, essendosi potuto compiere 8 passaggi in serie, senza esaurimento della positività.

Ad ogni modo, seguendo queste vie diverse, e particolarmente attraverso lo studio delle condizioni che inducono nel *b. coli* l'acquisizione o la perdita della virulenza e in parallelo l'acquisizione o la perdita di determinate caratteristiche antigeniche, è possibile che si giunga a precisare il significato che viene ad assumere il *b. coli* nella malattia da

ultravirus da noi isolata; ed è evidente come il chiarimento di questo punto potrebbe portare un notevole contributo anche alla soluzione del problema che sta al centro di tutte queste ricerche, e cioè quello dei rapporti tra l'ultravirus da noi isolato e il filtrato tifico di partenza.

* * *

Già quest'ultimo punto che appare il più delicato e il più complesso nella interpretazione dei nostri risultati, è stato largamente discusso nei precedenti lavori [1, 2, 3] nei quali furono anche prospettate le diverse possibilità interpretative. Queste, che concernono essenzialmente il rapporto che si può fare intercorrere tra l'ultravirus isolato e il filtrato tifico di partenza, si possono così riassumere:

1) diretta derivazione dell'ultravirus descritto dal filtrato tifico di partenza;

2) emergenza, attraverso l'azione tossica del filtrato, di un virus latente nei tessuti dell'animale;

3) formazione ex novo nei tessuti dell'animale, sotto lo stimolo del filtrato, di un agente patogeno del tipo degli ultravirus.

Diverse vie furono seguite, per tentare di chiarire questa parte fondamentale nel problema che ci eravamo proposti. Una prima via fu quella di sottoporre il coniglio a stimoli diversi, tossici o semplicemente traumatici, onde vedere se anche questi fossero eventualmente capaci di far emergere in quest'animale una malattia trasmissibile analoga a quella provocata dal filtrato tifico. Questo gruppo di esperienze rimaste fino ad ora negative (v. esposizione più dettagliata nei precedenti lavori [2, 3]) potranno però acquistare un valore decisivo solo quando raggiungeranno un'estensione comparabile a quella ottenuta per le esperienze eseguite col filtrato tifico.

Una seconda via fu quella immunitaria. Un primo aspetto dell'ampio problema immunitario fu da noi affrontato nelle esperienze del 1941, le quali particolarmente bene si prestarono a questo scopo, data l'elevatissima mortalità che la malattia da ultravirus presentò durante i passaggi. Questa infatti ci consentì di paragonare, di fronte all'inoculazione di sospensioni di tessuti virulenti, la resistenza dell'animale normale, quella di animali che erano sopravvissuti all'inoculazione del filtrato tifico di partenza (eseguita per via endocerebrale ed endoperitoneale), e quella di animali che erano sopravvissuti, senza aver presentato segni di malattia, all'inoculazione eseguita per le stesse vie, di sospensioni di organi di coni-

gli di passaggio. L'iniezione per via endocerebrale o per via endocerebrale e endoperitoneale col materiale virulento, fu sempre eseguita in parallelo su alcuni (2 o più) animali normali e su alcuni (2 o più) animali di prova, partendo da sospensioni di organi di conigli morti in seguito alla malattia descritta, contenenti perciò l'ultravirus patogeno: le numerose esperienze furono eseguite con materiale virulento proveniente da diverse serie sperimentali. I risultati complessivi ci sembrano veramente dimostrativi: mentre dei 21 conigli normali, 20 (= 95,2 %) soccomberono all'iniezione del materiale virulento, e dei 7 conigli pretrattati con sospensioni di organi di passaggio e rimasti negativi, tutti ugualmente soccomberono, invece di 14 animali pretrattati con filtrato tifico (tutti presentanti agglutinine antitifiche ad alto titolo nel sangue), 7 (= 50 %) si dimostrarono completamente resistenti all'iniezione di sospensioni di tessuto virulento, essendo sopravvissuti senza aver presentato alcun segno di malattia, mentre gli altri 7 soccomberono come tutti i precedenti. Ciò dimostra che solo nel gruppo di animali pretrattati direttamente col filtrato tifico si è avuto in un'elevata percentuale (50 %) di casi un completo stato di resistenza verso l'infezione da ultravirus: l'importanza di questo dato è evidente nella valutazione del rapporto fra il filtrato tifico di partenza e il virus patogeno isolato nel coniglio. La mancata modificazione di resistenza negli animali pretrattati con sospensioni di tessuti tratti da animali di passaggio starebbe a provare che, quando la malattia non venga provocata attraverso queste vie per una causa legata alla naturale resistenza dell'animale o per una insufficienza del virus contenuto nel tessuto, le sospensioni di tessuto di per sé non agiscono o agiscono scarsamente anche in via immunitaria. Dati questi primi risultati veramente incoraggianti, una estensione di queste ricerche ad orientamento immunitario ci sembra senz'altro opportuna.

Un'altra via, capace di portare un chiarimento al problema dei rapporti tra bacillo tifico e ultravirus isolato nel coniglio è quella di ricercare se in un'altra specie animale sia possibile provocare attraverso il filtrato tifico una malattia trasmissibile in serie, paragonabile a quella descritta nel coniglio. Esperienze con questo orientamento sono state condotte da due di noi (MAGRASSI e GIORDANO) nel topolino (*Mus musculus*); i risultati largamente positivi in esse ottenuti sono tali da acquistare un'importanza fondamentale nell'insieme di queste ricerche. Su tali risultati ritorneremo perciò estesamente in una prossima comunicazione a questa Accademia. Ricordiamo intanto a questo proposito che gli unici dati trovati nella letteratura che si riconnettono in qualche modo ai nostri (v. MAGRASSI, GALLI e SCALFI [3]), sono tratti da esperienze condotte nella cavia: tali sono infatti i risultati ottenuti da FRIEDBERGER e collabo-

ratori [8, 9], che partendo da organi di individui morti di tifo riuscirono a provocare nella cavia, tra il 10° e il 14° giorno, una malattia febbrile non mortale trasmissibile in serie a mezzo del cervello dell'animale ucciso durante la fase acuta di malattia, ed i risultati di FEJGIN [10] che un'analogha malattia febbrile trasmissibile in serie a mezzo del cervello riuscì a provocare nella cavia partendo da lisati sterili ottenuti facendo agire il batteriofago su culture tifiche.

Solo quando le ricerche orientate nelle tre suddette direzioni diverse avranno potuto essere completate, si potranno da esse ricavare i dati, che sono necessari per concludere sui rapporti dell'ultravirus isolato coi bacilli tifici di partenza: per ora questo problema rimane perciò ancora aperto.

* * *

Su un ultimo gruppo di ricerche collaterali resta da parlare, concernente i dati sierologici, su cui richiamammo già l'attenzione nei nostri precedenti lavori [1, 2, 3]. Avevamo infatti osservato fin dall'inizio delle nostre esperienze, alcuni fatti che ci sembrarono degni di interesse:

1) i ceppi di *b. coli* che si ricavano dall'intestino tenue di conigli morti in seguito alla malattia da ultravirus da noi descritta, si presentavano in gran parte agglutinabili dai sieri-testo antitifo-paratifici del commercio (dell'I.S.M.);

2) tale agglutinabilità fu trovata essere presente anche in molti dei ceppi *b. coli* che si ottenevano dall'intestino crasso o tenue di animali normali;

2) i sieri dei conigli, morti in seguito alla malattia da ultravirus descritta, presentavano in circa il 40 % dei casi delle agglutinine antitifiche a titoli più o meno elevati;

4) anche i sieri di conigli normali, specie dopo un episodio diarroico, potevano presentare agglutinine antitifiche sia pure con minor frequenza e a titoli in genere un po' meno elevati che negli animali affetti dalla malattia descritta.

Questo insieme di fatti ci aveva fatto sospettare che potesse esistere un rapporto tra l'agglutinabilità dei ceppi di *b. coli* isolati dall'intestino del coniglio e la presenza di agglutinine antitifiche nel siero di esso. Ricerche sistematiche furono compiute da CIPOLAT e GIUNCHI [11], col l'intento di chiarire tale eventuale rapporto, da un lato attraverso l'ana-

lisi qualitativa delle agglutinine presenti nel siero di conigli normali od affetti dalla malattia da ultravirus da noi descritta, e dall'altro attraverso l'analisi qualitativa del complesso antigenico presente nei *b. coli*, agglutinabili dai sieri antitifici. Potè così essere documentato che i ceppi di *b. coli* agglutinabili dai sieri antitifici, quali si isolano con grande frequenza dall'intestino di conigli anche normali, sono dotati di un antigene somatico in comune coll'antigene somatico O del bacillo tifico; ed inoltre che le agglutinine antitifiche che si trovano nel siero di coniglio sono di tipo anti-O. Questi due dati confermano la possibile esistenza di un rapporto tra i *b. coli* tifo-agglutinabili e le agglutinine antitifiche trovate presenti nel coniglio; ed appoggiano validamente l'interpretazione che già avevamo nel nostro precedente lavoro [3] prospettato, e cioè che la presenza nel coniglio di tali agglutinine antitifiche si potesse riportare ad una diffusione degli antigeni del *b. coli* attraverso la parete intestinale; è infatti evidente che tale diffusione viene ad essere favorita dalle alterazioni di permeabilità della parete intestinale, determinate da diverse condizioni morbose, tra le quali può essere compresa anche la malattia da noi descritta. Un'ulteriore prova in favore di questa interpretazione risultò anche da altre ricerche di CIPOLAT e GIUNCHI [11], in cui potè essere dimostrato che nella maggior parte dei casi, il siero di un coniglio presentante agglutinine antitifiche agglutina anche il *b. coli* isolato dall'intestino dello stesso animale, quando questo germe sia agglutinabile dal siero antitifico.

RIASSUNTO. — Gli AA. riassumono i risultati ottenuti in esperienze svolte nel corso di 4 anni, nei tentativi sistematicamente ripetuti di isolamento dell'ultravirus patogeno da loro descritto nel coniglio, in seguito all'inoculazione di filtrati ottenuti da bacilli tifici virulenti.

Tralasciando le esperienze riferite nei precedenti lavori, furono compiute dal settembre 1937 all'aprile 1942, durante 31 mesi, 46 esperienze su 690 animali, partendo da diversi ceppi tifici contenenti l'antigene Vi: di esse 9 furono positive nel 1940, e queste caddero tutte nel periodo compreso tra l'aprile e il luglio, e 9 furono positive nel 1941, cadendo queste in un periodo compreso tra l'aprile e il settembre. L'insieme dei risultati ottenuti dal 1938 al 1942 perfettamente concordano quindi, per ciò che riguarda i limiti stagionali entro i quali essi furono trovati positivi. Dall'esame complessivo di tali risultati si ricava perciò l'impressione che la possibilità di ottenere dal coniglio l'ultravirus patogeno descritto sia nettamente legata ad un influenzamento stagionale, difficilmente però precisabile sia nella sua natura che nel suo punto di attacco. Dallo studio dell'ampio materiale ricavato dalle esperienze degli anni 1940 e 1941, furono ottenuti dati anatomo-patologici e batteriologici-culturali, che confermano quelli ottenuti nelle esperienze dei due anni precedenti. Viene sottolineata l'importanza che assume la diffusione del *b. coli* durante l'evoluzione della ma-

lattia, sostenuta, quale causa prima, dal virus trasmissibile; e viene accennato alla possibilità di un'esaltata attività di questo germe in funzione di un aumento di virulenza di esso.

Viene discusso il problema dei rapporti tra l'ultravirus isolato nel coniglio e il filtrato tifico di partenza, e vengono prospettate le diverse vie sperimentali attraverso le quali si può arrivare ad un chiarimento di questo punto che rimane il più complesso e il più delicato per l'interpretazione di tutte queste ricerche. Tra le diverse vie sperimentali, in parte già percorse, assume una posizione importante quella orientata in senso immunitario: vengono riferiti i primi risultati di immunità crociata in animali pretrattati con filtrato tifico e reiniettati con l'ultravirus di passaggio.

Vengono infine posti in luce alcuni dati sierologici che permettono di legare l'agglutinabilità verso sieri antitifici-antiparatifici, osservata spesso nei *b. coli* isolati dall'intestino del coniglio, e le agglutinine antitifiche trovate presenti nel siero di quest'animale in condizioni normali o patologiche (tra le quali è compresa anche la malattia da ultravirus qui descritta).

AUTORI CITATI

- [1] MAGRASSI F., GALLI F., e SCALFI L., « Boll. e Atti R. Accad. Med. di Roma », 66, 17, 1940.
- [2] — « Boll. Ist. Sier. Mil. », 18, 709, 1939.
- [3] — « Arch. f. d. ges. Virusforschung », 1, 324, 1940.
- [4] SÜDMERSEN e GLNNY, cit. secondo CARLINFANTI E., « Boll. Ist. Sier. Mil. », 21, 97, 1942.
- [5] DI MACCO G., « Atti IV Congr. Intern. Pat. Comp. », II vol., 133, 1939.
- [6] SANARELLI G., « Ann. Ig. », 5, 1894.
- [7] KAUFFMANN F., « Acta Path. et Microbiol. Scand. », 18, 325, 1941.
- [8] FRIEDBERGER E. u. MEISSNER G., « Klin. Wschr. », 2, 449, 1923.
- [9] FRIEDBERGER E. u. CECCHINI A., « Klin. Wschr. », 2, 2345, 1923.
- [10] FEJGIN B., « C. R. Soc. Biol. », 92, 1528, 1925.
- [11] CIPOLAT G. e GIUNCHI G., ricerche ancora inedite.

17022

34





