

59/280

Misc B7h/57

ISTITUTO « CARLO FORLANINI »  
CLINICA FISIOLGICA DELL'UNIVERSITÀ DI ROMA  
Direttore inc. : Prof. A. OMODEI-ZORINI

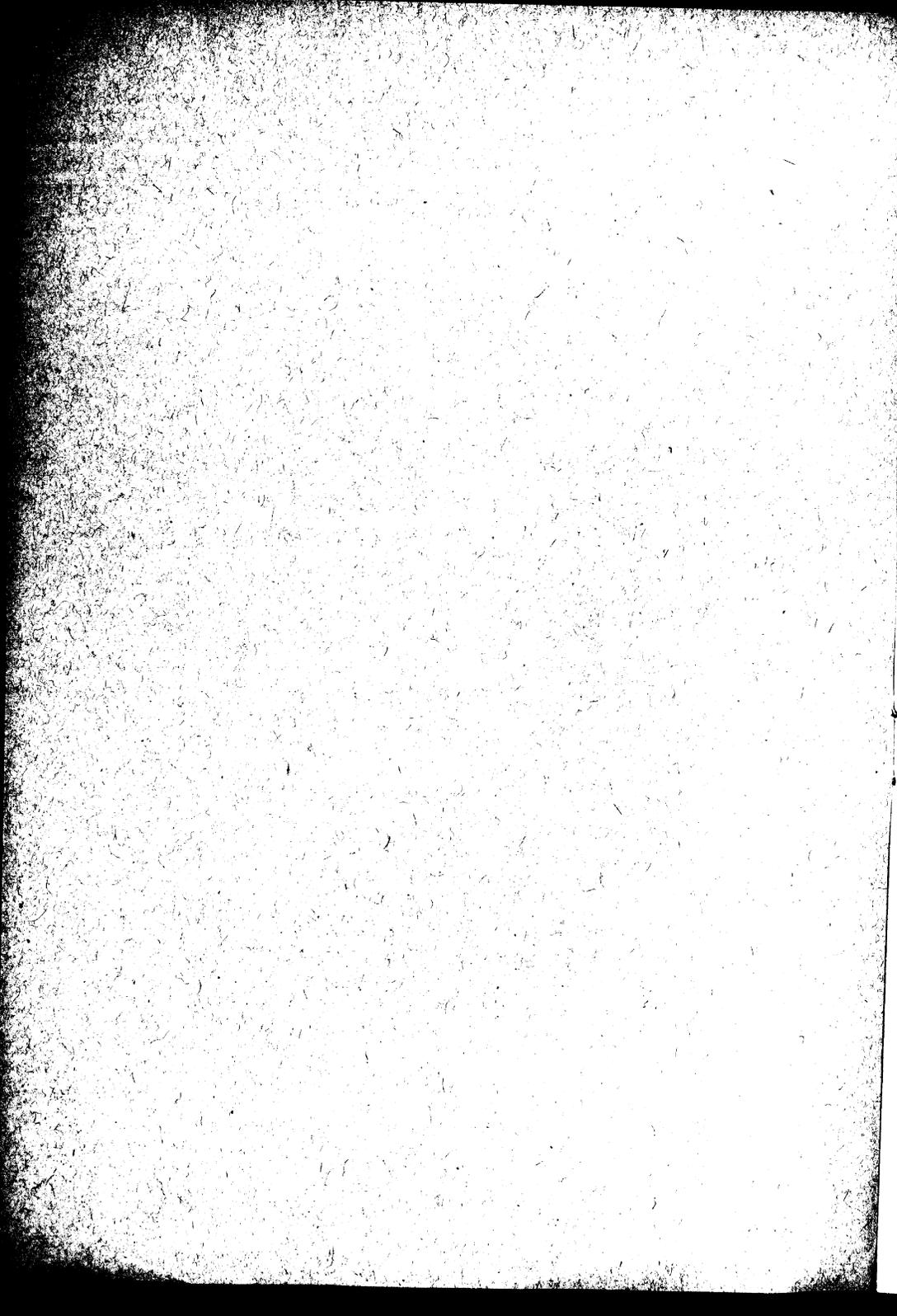
S. SAVARINO

**Prime ricerche sull'affinità sierologiche fra ceppi  
di bacilli acido-resistenti saprofiti**



Estratto dagli *Annali dell'Istituto « Carlo Forlanini »* - Volume IX - Fasc. IV

R O M A  
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA  
1947



## PRIME RICERCHE SULL'AFFINITÀ SIEROLOGICHE FRA CEPPI DI BACILLI ACIDO-RESISTENTI SAPROFITI

S. SAVARINO

I bacilli acido-resistenti non tubercolari sono largamente diffusi e costituiscono un gruppo assai eterogeneo nel quale le singole specie sono intitolate al materiale dal quale sono state isolate; è quindi giustificato ricercare l'eventuale esistenza di affinità tra loro per vedere se fosse possibile suddividerle in specie aventi caratteristiche e, forse anche, origine comune.

Il fatto che alcuni stipiti posseggano caratteri anche colturali macroscopici peculiari, non meraviglia quando si pensi che anche molti ceppi di bacilli tubercolari umani e bovini, pur essendo dotati di proprietà fondamentali distinte, presentano tuttavia delle caratteristiche biologiche (colturali, sierologiche, patogeni) che sono loro proprie e forniscono elementi riconoscitivi per i singoli ceppi; (si ricordi ad esempio l'identificazione del ceppo patogeno che uccise i bambini a Lubecca).

Risparmiandoci una dettagliata esemplificazione, ricordiamo a questo proposito la particolare pigmentazione d'alcuni ceppi, la loro diversa velocità di sviluppo, il differente aspetto delle colture, il grado maggiore o minore di virulenza ecc.

Differenze di tal genere nei ceppi acido-resistenti parassiti, possono venire spiegate con il fatto che essi, nel passaggio attraverso organismi recettivi (passaggio durante il quale ciascuno stipite va incontro ad un numero grandissimo di successive generazioni) possono ricevere influenze varie, le cui tracce rimangono poi sotto forma di caratteri peculiari di ogni singolo ceppo.

Nei ceppi non patogeni, nei quali le occasioni di riprodursi con siffatta attività sono certamente minori, le diverse condizioni d'ambiente e di pabulum, nelle quali i ceppi stessi vengono talvolta a trovarsi, rimanendovi a lungo, possono lasciare un'impronta indelebile sulla biologia dei ceppi stessi.

Perciò è giustificato pensare che anche i ceppi saprofiti abbiano la possibilità di acquisire alcune peculiarità biologiche che valgano a distinguerle l'uno dall'altro.

Volendo prendere in esame il problema delle caratteristiche e della sistematica dei ceppi acido-resistenti non tubercolari, abbiamo cominciato con l'esame delle proprietà sierologiche di un certo numero di ceppi differenziati

dalla loro origine, riservandoci d'estendere le nostre indagini ad un più numeroso gruppo di ceppi d'eguale provenienza.

\* \* \*

Le nostre ricerche sono state compiute, con la tecnica che esporremo appresso, comparativamente su dieci ceppi di bacilli acido resistenti: due patogeni tubercolari (H. 522 umano, Vallée bovino) e otto saprofiti (Timoteo, 3239, 3604, Ba, Ri, 3297, Fr, smegma). Con questi ceppi sono stati preparati immunsieri, con i quali sono state fatte deviazioni del complemento crociate, ricercando la presenza di anticorpi omologhi ed eterologhi. I risultati riassuntivi di queste prove vengono riportate nella tabella.

Sono state inoltre praticate prove d'assorbimento per separare gli omoanticorpi dagli eteroanticorpi presenti in ciascun siero immune.

*Tecnica.* — Per la preparazione dei sieri immuni servirono 10 gruppi di 3 conigli, tutti negativi ad un preventivo saggio tubercolinico. Gli animali di ciascun gruppo ricevettero rispettivamente per via endovenosa tre serie d'iniezioni d'una sospensione di b. uccisi al calore allestita da uno dei 10 ceppi in studio. Le iniezioni furono 4 per ciascuna delle prime due serie e 2 per l'ultima, praticate a giorni consecutivi per ogni serie, distanziando di 4 giorni una serie dall'altra. Le singole dosi furono le seguenti:

1<sup>a</sup> serie — gr. 0,001 — 0,002 — 0,003 — 0,003  
 2<sup>a</sup> » — gr. 0,004 — 0,004 — 0,005 — 0,006  
 3<sup>a</sup> » — gr. 0,008 — 0,010

alla distanza di 15 giorni dall'ultima iniezione tutti gli animali vennero salassati in bianco.

Abbiamo voluto immunizzare 3 conigli per ogni ceppo, per evitare che casuali diverse attitudini a sviluppare anticorpi, possedute dai singoli animali, potessero falsificare i risultati.

Le sospensioni bacillari occorrenti come antigeni da usare sia per l'immunizzazione degli animali, sia per le reazioni di deviazione del complemento, vennero preparate secondo la tecnica proposta da Petraghani per la preparazione di più omogenee sospensioni bacillari, con crema di bacilli + cloruro di sodio. Le patine bacillari vennero prelevate da colture in terreni solidi elettivi di 30 giorni per i ceppi tubercolari e di 15 per i saprofiti.

Per le prove di deviazione del complemento, ogni antigene prima di venire usato nelle reazioni fu titolato nel suo potere anticomplementare e nel suo valore antigene. Per le nostre prove abbiamo allestito diluizioni scalari di ciascun siero da 1/40 a 1/320, ciascun antigene venne usato ad una diluizione maggiore di quella minima anticomplementare, il complemento 1/15 ed il siero emolitico al titolo massimo compatibile col sistema del giorno. Le dosi con cui vennero usati i singoli reagenti fu di cc. 0,25.

La fissazione del complemento fu fatta avvenire in termostato a 37° C. per 1 h. e 1/3 e dopo l'aggiunta del siero emolitico e dei globuli rossi, si fecero due letture dei risultati; una all'emolisi dei controlli e l'altra dopo 12 h. a tem. amb. Dico subito che tra le due letture non s'ebbero differenze apprezzabili, comunque nella tabella sono riportati i risultati della seconda lettura.

Nelle nostre prove d'assorbimento abbiamo adoperato per ciascuna d'esse gr. 0,10 di b. asciutti che vengono lavati con sol. fisiol. in centrifuga tante volte quante sono necessarie per eliminare totalmente le particelle solubili e quelle poco ben centrifugabili. Al sedimento batterico, separato dal liquido soprastante reso limpido s'aggiungono cc. 10

del siero in esame inattivato diluito 1/10. Dopo 2 h. a 37°C. e 24 h. in ghiacciaia, il miscuglio che s'era avuto cura d'agitare ripetutamente, viene centrifugato fortemente, il liquido limpido ripreso e nuovamente inattivato, serve per le reazioni.

TABELLA

Sieri immuni	ANTIGENI									
	H 522	Vallèe	3239	3604	Ba.	Timot.	Ri.	3297	Fr.	Smg.
H 522	1/50	1/50	o	o	1/40	o	o	o	1/40	o
Vallèe	o	1/50	o	o	o	o	o	o	o	o
3239	o	1/50	1/160	1/160	o	o	1/250	o	o	1/80
3604	o	o	1/100	1/200	o	o	1/100	o	o	1/100
Ba.	o	o	o	o	1/50	o	1/50	o	1/40	1/80
Timoteo	o	o	o	o	o	1/80	o	o	o	o
Ri.	o	1/100	1/200	1/200	1/80	1/80	1/250	1/320	1/80	1/100
3297	1/50	1/40	o	o	o	1/80	1/40	1/320	1/100	1/50
Fr.	o	o	o	o	o	o	o	o	1/80	o
Smegma	1/40	1/80	1/50	1/50	o	1/50	1/100	o	o	1/320

Occorre esaminare separatamente da un canto la presenza di omo ed etero-anticorpi nei singoli sieri, dall'altro le proprietà antigeniche possedute dai singoli ceppi nei confronti dei sieri omologhi ed eterologhi. Infatti si nota una maggiore specificità dei sieri che non degli antigeni, nel senso che alcuni ceppi mentre provocano esclusivamente la comparsa di omoanticorpi, posseggono tuttavia proprietà antigeniche nei confronti dei sieri preparati con altri ceppi. Ciò è particolarmente evidente nel caso dei ceppi Timoteo ed Fr. i sieri dei quali reagiscono positivamente solo con gli antigeni omologhi, mentre i ceppi stessi esercitano la loro funzione antigenica anche con sieri prodotti con ceppi diversi.

Si possono inoltre identificare solo due gruppi di ceppi aventi una relativa affinità antigenica, un gruppo costituito dai ceppi 3239, 3604 e Ri. che nelle reazioni crociate reagiscono positivamente a titolo abbastanza alto; l'altro gruppo è costituito dai ceppi Ri. e 3297.

Complessivamente le prove dirette e crociate eseguite hanno messo in evidenza che i ceppi acido-resistenti esaminati contengono quote antigeniche specifiche ed aspecifiche, queste ultime superando in qualche caso le prime.

I risultati delle prove d'assorbimento confermano quanto sopra. Prendendo in considerazione infatti quanto avviene assorbendo il siero anti-Ri., che tra l'altro è quello che dimostra la più estesa reattività col ceppo Fr., noi troviamo che l'assorbimento asporta tutti gli anticorpi presenti nel siero compresi quelli anti-Ri., viceversa assorbendo il siero anti-Fr. col ceppo Ri. solo una piccola parte degli anticorpi omologhi, anti-Fr., vengono asportati,

mentre l'assorbimento con tutti gli altri ceppi lascia inalterato il titolo degli anticorpi specifici anti Fr.

È inoltre interessante notare la scarsa attività sierologica dimostrata dai ceppi tubercolari umano (H. 522) e bovino (Vallée): tuttavia, anche per essi le prove eseguite parlano in favore dell'esistenza di frazioni antigeni in comune con i b. acido-resistenti saprofiti, come del resto era prevedibile da tutto quanto è già noto circa la simile costituzione chimica dei b. acido-resistenti patogeni e non patogeni.

Sarà opportuno estendere queste ricerche ad un maggior numero di ceppi, per vedere se è possibile mettere in evidenza la frazione antigene più diffusa, che consenta una ben fondata suddivisione dei ceppi stessi.

#### RIASSUNTO

Esaminati sierologicamente mediante deviazione del complemento crociata ed assorbimento d'anticorpi, i ceppi di b. acido-resistenti saprofiti dimostrano una costituzione antigene complessa nella quale le quote antigeniche specifiche non sempre prevalgono su quelle aspecifiche.

Alcuni dimostrano quote antigeniche in comune anche con due ceppi tubercolari: uno umano ed uno bovino.

#### SUMMARY

The serological examination (crossreactions with complement fixation and antibody absorption) demonstrates, that the saprophytic acid-fast bacilli have a complex antigen structure whose specific fractions not always prevail on the aspecific ones.

Some strains possess an antigen fraction reacting also with two tubercular strains, a human and a bovine one.

354434

