

## BREVI NOTE

*La Redazione non si ritiene responsabile delle opinioni espresse dagli Autori nelle Brevi Note.*

### **Alcuni semplici metodi di analisi statistica utilizzabili per l'analisi di sequenze di spikes di neuroni.**

L'analisi di segnali biologici del genere degli spikes di neuroni può essere condotta vantaggiosamente con metodi statistici. In molti casi è proprio il grande numero dei segnali a rendere problematica un'analisi dei singoli campioni, ed a suggerire l'impiego di metodi di studio a carattere globale, in particolare di metodi statistici.

Sono stati portati a termine ultimamente dei lavori di questo genere assai interessanti, in particolare nel campo dell'elettroencefalografia. Prendendo lo spunto da alcuni di questi, si è pensato di proporre l'impiego di alcuni semplici metodi di analisi statistica per lo studio di sistemi nervosi non complessi, e meglio conosciuti del cervello dei mammiferi, in cui sia più semplice valutare l'attività e l'interazione dei neuroni.

Qualora si costruisca un istogramma dividendo in classi di ampiezza le oscillazioni dei potenziali intracellulari del singolo neurone della corteccia cerebrale del gatto anestetizzato, e campionando periodicamente nel tempo l'attività, è stato osservato che generalmente non si ottiene una distribuzione di tipo normale, e che il comportamento del singolo neurone è, sotto questo aspetto, non Gaussiano.

Molto recentemente Rafael Elul ha pubblicato uno dei lavori più interessanti e aggiornati su tale argomento<sup>1</sup>; egli rileva che mentre il comportamento del singolo neurone può esser classificato in genere non Gaussiano, il comportamento dell'insieme dei neuroni dislocati nelle immediate vicinanze di quello in osservazione, considerati globalmente, è in genere di tipo Gaussiano. L'Autore trae la conclusione che se il neurone è assimilato ad un oscillatore di frequenza variabile, tale oscillatore risulta nella maggioranza dei casi non sincronizzato con gli altri oscillatori analoghi rappresentanti i neuroni vicini.

I casi in cui invece è da supporre che vi sia una sincronizzazione, almeno parziale, sono quelli noti in cui la presenza di un segnale globale notevolmente alto, del genere di quello, ad esempio, del ritmo alfa, può essere giustificata proprio con l'ipotesi di un'azione sincronica di molti neuroni. Sempre secondo Eul, nel caso della non sincronizzazione si può ipotizzare un'eventuale presenza di legami di tipo non lineare tra le attività dei singoli oscillatori; un ragionamento dello stesso tipo potrebbe essere fatto a proposito dei segnali rinvenibili in punti diversi di un computer da parte di un osservatore che ignorasse del tutto la logica della macchina.

Si è pensato, in base a tutte queste considerazioni, di iniziare uno studio sui legami tra le attività dei neuroni appartenenti ad un sistema estremamente più semplice di un cervello di mammifero, e cioè sul sistema nervoso di una blatta, o meglio su una parte di esso, la catena nervosa gangliare. Esiste su tale argomento una solida base di esperienze che può costituire un ottimo punto di partenza. È stata fatta una schematizzazione del sistema da studiare, senza la pretesa di cercare una reale similitudine, ma allo scopo di impostare in modo pratico il problema sotto l'aspetto del prelievamento dei dati e dell'interazione dei segnali (Fig. 1).

La catena nervosa gangliare, di cui interessa esaminare l'attività, in particolare quella spontanea, è stata assimilata ad un sistema dotato di organi di ingresso, di una memoria, di un'unità di elaborazione, di un'unità di controllo, e di organi di uscita.

I segnali di ingresso di tale sistema saranno la temperatura, l'energia radiante, le eventuali alterazioni chimiche, gli stimoli elettrici provenienti dall'esterno, eccetera. All'uscita si disporrà di una certa quantità di impulsi di ampiezza diversa, presentantisi con frequenza variabile continuamente; questi segnali saranno divisi secondo classi di ampiezza, assimilando l'uscita ad un insieme di uscite parallele, ottenute separando i segnali in base al livello.

Questa è semplicemente un'ipotesi di lavoro, che sarà almeno in parte confermata o negata dai risultati dello studio; del resto tale ipotesi è in accordo con la teoria che i segnali di ampiezza minore provengano in gran parte da neuroni più lontani dall'elettrodo, diversi da quelli che danno la maggior parte dei segnali più ampi, più vicini all'elettrodo, o con la teoria che i segnali più ampi provengano da gruppi di neuroni che lavorano in sincronia.

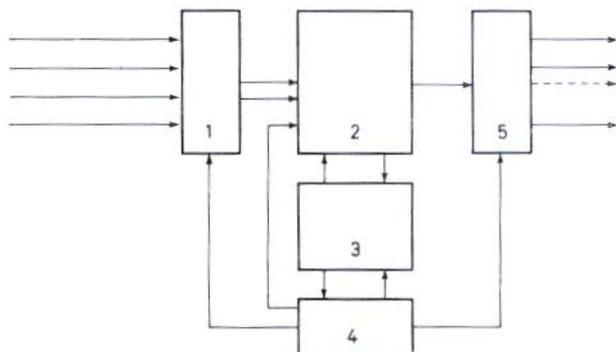


Fig. 1. — Schematizzazione del sistema.

1 - Organi di input; 2 - Unità di elaborazione; 3 - Memoria; 4 - Unità di controllo; 5 - Organi di output.

È stata introdotta nello schema una memoria, in quanto la catena nervosa gangliare conserva, come il neurone, l'informazione sulle situazioni precedenti degli ingressi. Nel complesso lo schema è strutturalmente simile a quello ben noto usato per il singolo neurone.

I canali di uscita saranno esaminati separatamente e per ognuno di essi si avrà una registrazione nel tempo. Gli spikes raccolti dagli elettrodi, sufficientemente amplificati, saranno registrati su nastro magnetico; tale nastro sarà fatto scorrere più volte, ed usufruendo di un sistema elettronico a soglia, sarà possibile prelevare ogni volta i segnali superiori al livello di soglia.

Per ogni soglia otterremo infine una registrazione su carta del numero di impulsi per intervallo di tempo; la differenza tra il numero di impulsi contato con una soglia, e quello contato con la soglia immediatamente superiore, rappresenta il numero di impulsi compresi tra le due soglie. In tal modo si otterranno le classi di impulsi di ampiezza simile, campionate nel tempo; questo sarà il materiale da elaborare, applicando test statistici di tipo parametrico e non parametrico.

Si potranno innanzi tutto costruire gli istogrammi corrispondenti alle varie classi, riportando in ordinata il numero di campioni temporali contenenti lo stesso numero di impulsi, ed in ascissa gli intervalli corrispondenti ai rispettivi numeri di impulsi nell'unità di tempo scelta. Si potrà calcolare la media e la varianza, e controllare il carattere Gaussiano o meno delle distribuzioni. Più interessante potrà essere l'applicazione di test non parametrici, in particolare del test del  $\chi^2$  di Pizzetti - Pearson che permetterà di valutare l'indice di adattamento di due o più classi e di valutare l'attendibilità di eventuali ipotesi sull'andamento della frequenza e dell'ampiezza degli spikes <sup>2,3</sup>.

Ad esempio, volendo sottoporre al test l'ipotesi che due classi di spikes di determinata ampiezza presentino un'effettiva similitudine nei loro andamenti, si potrà procedere nel modo seguente, come ben noto:

Sia  $N_{A \text{ tot}}$  il numero ottenuto dalla somma di tutti i campioni della classe A.

Sia  $N_{B \text{ tot}}$  il numero ottenuto dalla somma di tutti i campioni della classe B.

Sia  $N_{iA}$  l' $i$ -esimo campione della classe A.

Sia  $N_{iB}$  l' $i$ -esimo campione della classe B.

Per definizione si avrà:

$$\sum_{i=1}^n N_{iA} = N_{A \text{ tot}}$$

$$\sum_{i=1}^n N_{iB} = N_{B \text{ tot}}$$

La classe teorica ottenuta dalla classe B supponendo l'adattamento completo di questa alla classe A, secondo l'ipotesi fatta, si otterrà ponendo:

$$\frac{N_{iB}}{N_{B \text{ tot}}} = \frac{N_{iA}}{N_{A \text{ tot}}}$$

in cui  $N'_{iB}$  è il campione teorico, che avremmo effettivamente se l'ipotesi fosse valida.

Valutati gli  $N'_{iB}$  teorici si calcola il  $\chi^2$  sperimentale, in base alla nota formula:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(N_{iB} - N'_{iB})^2}{N'_{iB}}$$

e si confronta con il  $\chi^2$  teorico, desunto dalle tavole sulla base dei gradi di libertà del caso specifico e del livello di attendibilità desiderato.

Dal confronto trarremo informazione sulla bontà o meno dell'ipotesi fatta. Si potrà usare il test su più classi contemporaneamente, lavorando con tabelle di un numero di righe maggiore.

Da un esame di questo tipo si potrebbe trarre un criterio di giudizio per valutare l'indipendenza o meno dei canali introdotti nello schema.

Il test potrebbe infine rivelarsi utile per provare se vi è connessione significativa tra la generica classe di spikes proveniente da una catena gangliare sottoposta ad un trattamento K ed il trattamento stesso. L'ipotesi da assoggettare al test potrebbe essere quella dell'indipendenza, ponendo che in presenza od in assenza del trattamento gli andamenti degli spikes siano gli stessi, costruendo i campioni teorici in conseguenza, e confrontando i campioni teorici con quelli reali in presenza ed in assenza del trattamento.

Si potrebbe ancora indagare se un determinato trattamento è selettivo nei confronti di particolari classi di spikes.

Infine potrebbe essere interessante l'applicazione di un altro test, quello della *mediana*, che permetterà di avere informazione sulla appartenenza o meno di più classi di spikes alla stessa popolazione statistica.

Quelli citati sono solo pochi tra i vari procedimenti che la statistica mette a disposizione per lavori di questo genere; si è comunque ritenuto sufficiente proporre solo un numero limitato di tests per semplificare l'inizio di un'esperienza di questo tipo.

GIOVANNI ALFREDO ZAPPONI (\*)

*Laboratori di Elettronica*

Ricevuto il 23 aprile 1970.

<sup>1</sup> ELUL, R. *Science*. **164**. 328 (1969).

<sup>2</sup> BOLDRINI, M. *Statistica: teoria e metodi*. Giuffrè, Milano, 1968, V Ed.

<sup>3</sup> *Lezioni di metodologia statistica per ricercatori*. Istituto di Statistica dell'Università di Roma, 1960.

---

(\*) Borsista dei Laboratori di Elettronica.

## Apparato di controllo per un ventricolo artificiale sinistro sincronizzato sulle variabili emodinamiche.

L'alto numero di decessi causato negli ultimi anni dalle disfunzioni cardiache, ha portato in primissimo piano la necessità dello studio dei problemi connessi con la costruzione di "assist devices" e di cuori artificiali <sup>1</sup>.

Allo stato attuale, si può affermare che il problema del cuore artificiale sia più di ordine tecnologico che di ricerca medica. Si tratta cioè di risolvere essenzialmente problemi riguardanti la produzione di energia, i materiali con cui deve venire in contatto il sangue; i controlli automatici, e la realizzazione di strutture compatte e di alta affidabilità.

*Richieste di potenza.* Primo passo per la progettazione di un cuore artificiale o di un "assist device", è il calcolo della potenza che il sistema meccanico deve essere in grado di controllare e trasferire sull'elemento pompante. Come è noto, il lavoro che il cuore compie durante un ciclo, è dato dalla

$$L = \int P dV$$

Per un individuo in condizioni normali, la cui frequenza cardiaca si aggira attorno ai 70 battiti/minuto, si possono dare, con buona approssimazione, per la potenza, i seguenti valori <sup>2</sup>:

— ventricolo destro . . . . .	0,245 W
— ventricolo sinistro . . . . .	1,115 W

In casi patologici però si possono raggiungere valori molto più elevati, per cui si è ritenuto di prevedere una richiesta di potenza pari a quella *necessaria* ad iniettare 100 ml di sangue con la pressione di 300 mm Hg, alla frequenza di 180 battiti al minuto: in queste condizioni, considerando solo la potenza relativa al ventricolo sinistro, si trova che questa viene ad essere circa decuplicata, si aggira cioè attorno ai 15 W.

*Descrizione dell'apparato* (Fig. 1). Scopo del lavoro è la realizzazione dell'apparecchiatura elettronica di controllo e di sincronizzazione e dell'apparato motore per un ventricolo artificiale, estendibile eventualmente anche ad un cuore totale. Esula completamente dagli scopi di questo lavoro il problema di una protesi impiantabile, per cui non si è affatto tenuto conto del problema del rifornimento di energia, mentre si è avuto cura di ridurre al massimo la probabilità di guasti, in modo da poter assicurare un servizio continuativo il più lungo possibile. A tale scopo, si è anche cercato di sostituire elementi come la dinamo tachimetrica, il potenziometro per il controllo di posizione e lo stesso attuatore con altri elementi che non presentassero l'inconveniente di richiedere dopo un certo numero di ore, delle soste per procedere alla manutenzione di spazzole e contatti striscianti.

Il ventricolo artificiale deve essere in grado di adeguarsi il più rapidamente possibile alle variazioni di frequenza e di portata, in modo da perturbare il meno possibile le condizioni fisiologiche dell'individuo: il segnale di controllo per il ventricolo artificiale viene quindi dato dal cuore stesso, mediante rilevazione ed amplificazione dei potenziali miolettrici <sup>3,4</sup>.

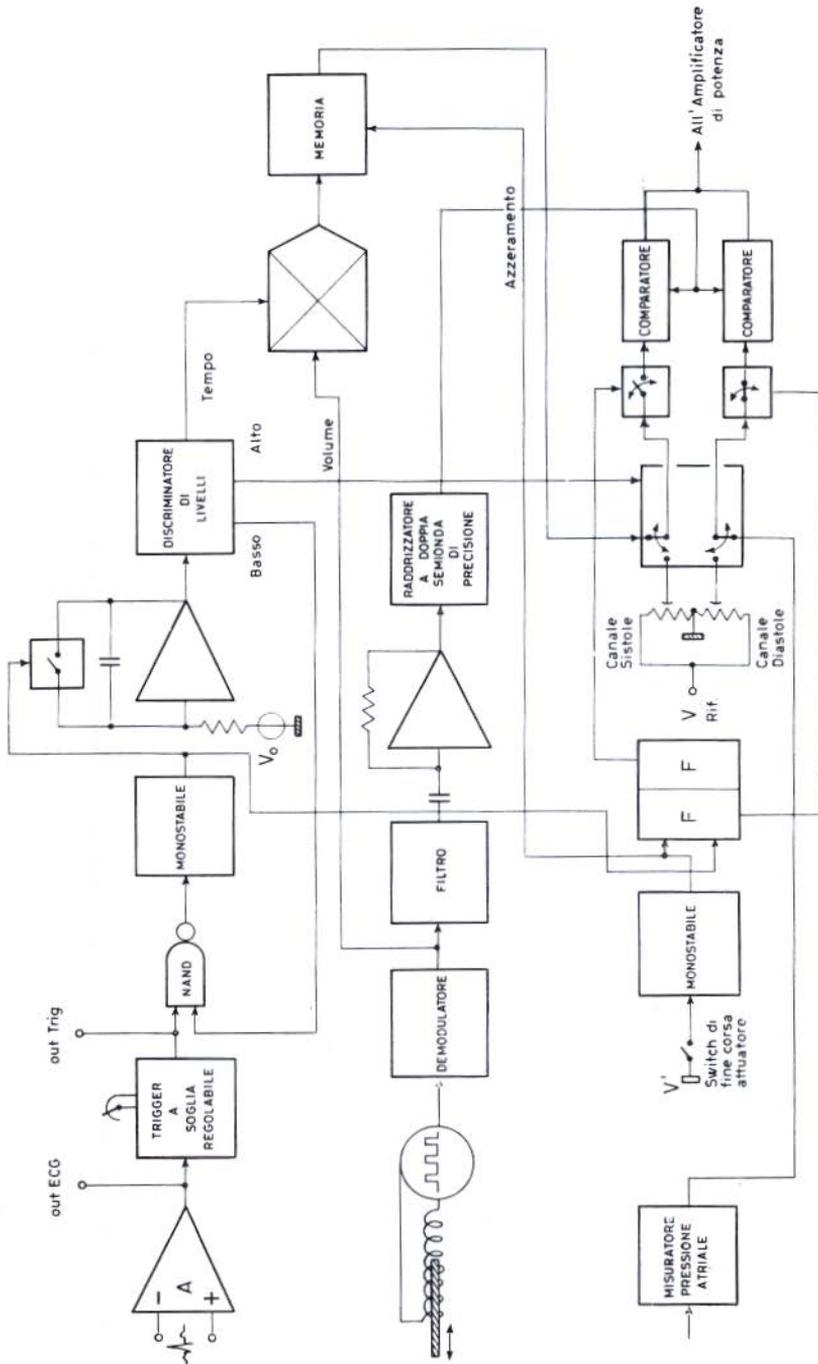


Fig. 1. — Schema a blocchi dell'apparato.

Tra le varie forme d'onda, mediante un trigger regolabile dall'esterno, viene isolata quella corrispondente alla sistole, e il segnale così ottenuto viene inviato ad un monostabile, che dà in uscita un segnale della durata di 1 ms. Questo impulso comanda a sua volta un interruttore che cortocircuita su comando la capacità di un integratore, il cui ingresso è connesso ad una opportuna tensione stabilizzata; quindi il complesso monostabile-integratore si comporta come un convertitore tempo-tensione, dando in uscita delle rampe la cui ampiezza è proporzionale al tempo intercorso tra una sistole e la successiva.

Contemporaneamente, un controllo di posizione dà, nella fase di aspirazione, un segnale di tensione proporzionale alla quantità di sangue prelevata nell'atrio, che viene inviato allo ingresso relativo al tempo <sup>5</sup> di un divisore, così da ottenere in uscita una tensione proporzionale alla quantità Volume/Tempo. L'informazione passa in modo continuo ad una memoria elettrostatica <sup>6</sup>, che la immagazzina quando l'uscita del divisore va a zero, e viene letta dall'amplificatore di potenza che comanda l'attuatore; finita la sistole meccanica, la memoria viene azzerata automaticamente ed è così pronta per il ciclo successivo.

Per quel che riguarda la fase di aspirazione meccanica, un sensore di pressione <sup>7</sup> collegato con l'atrio sinistro comanda l'amplificatore di potenza, in modo che l'aspirazione avvenga con la massima velocità possibile, e la pressione all'interno dell'atrio non scenda mai al disotto di un valore minimo opportuno. Sono stati inoltre aggiunti due circuiti ausiliari, che provvedono rispettivamente alla cancellazione delle extrasistoli e, in assenza di segnale elettrocardiografico, all'inserzione automatica del controllo manuale; entrambi i dispositivi vengono comandati dal convertitore tempo-tensione.

L'amplificatore di potenza è costituito da un amplificatore a controllo di fase realizzato con S.C.R. <sup>8</sup>.

Come si è già accennato, il potenziometro per il controllo di posizione, la dinamo tachimetrica e il motore a corrente continua, costituirebbero proprio i punti più deboli dell'intero sistema, i primi due a causa del consumo dei contatti striscianti e delle spazzole, il motore anche perchè sarebbe costretto a lavorare continuamente sullo spunto, il che causerebbe un notevole riscaldamento e la messa fuori servizio dello stesso.

Per ovviare a ciò, si è pensato di sostituire potenziometro e dinamo con un sensore costituito da una bobinetta di opportune dimensioni, entro la quale penetra più o meno un nucleo di ferrite solidale con l'attuatore, si da variare la reattanza della bobina, modulando così in frequenza un oscillatore ad onda quadra. L'uscita viene poi demodulata, e si ottiene così il segnale di tensione proporzionale alla posizione; questo stesso segnale poi, dopo opportuno filtraggio, viene inviato ad un derivatore, ottenendo così dallo stesso trasduttore anche il segnale tachimetrico <sup>9</sup>.

Il motore a sua volta è stato costruito con una struttura molto simile a quello di un alto-parlante: infatti si tratta essenzialmente di una bobina che si muove tra le espansioni polari di un elettromagnete <sup>10</sup>. Questo sistema, oltre a non necessitare di spazzole e contatti striscianti, presenta l'ulteriore vantaggio di non richiedere intermediari meccanici con il sistema che fornisce energia al ventricolo.

Ricevuto il 23 aprile 1970.

CLAUDIO BOSI (\*)

Laboratori di Elettronica

<sup>1</sup> FRIEDBERG, C. K. *Diseases of the heart*. Saunders, Philadelphia, 1949.

<sup>2</sup> RUCH, T. C. & J. F. FULTON. *Fisiologia e biofisica medica*. Società editrice Universo, Roma, 1965.

<sup>3</sup> MURARI, B. *Electrocardiograph and electroencephalograph preamplifier*. S. G. S. AR 166.

(\*) Ospite dei Laboratori di Elettronica.

- <sup>4</sup> *The application of linear planar microcircuits*. S. G. S. AR.
- <sup>5</sup> KORN, G. A. & T. M. KORN. *Electronic analog and hybrid computers*. Mc Graw-Hill, New York, 1964.
- <sup>6</sup> SEVIN, L. J. *Field effect transistors*. Mc Graw-Hill, New York, 1965.
- <sup>7</sup> NORTON, H. N. *Handbook of transducers for electronic measuring systems*. Prentice-Hall, London, 1969.
- <sup>8</sup> *Silicon controlled rectifier designers' handbook*. Westinghouse Electric Corporation.
- <sup>9</sup> GILLE, J. C., M. J. PELLEGRIN & P. DECAULNE. *Feedback control system*. Mc Graw-Hill, New York, 1959.
- <sup>10</sup> SLEMON, G. R. *Magnetolectric devices*. John Wiley and Sons, New York, 1966.

## Survey for antibodies against arthropod-borne viruses in man and animals in Italy. III. Serologic status of human beings and animals in a southern Italian region (Neaples Province).

Sicilian and Neapolitan Phlebotomus fever viruses<sup>1</sup>, Tahyna<sup>2</sup> and Bhanja<sup>3</sup> viruses have been isolated in Italy. Furthermore there is serologic evidence that: (a) one or more group B arboviruses are circulating in human and animal population<sup>4,6</sup>; (b) one or more group A arboviruses are circulating in animal population<sup>4,7</sup>.

The present report gives the results of a serologic survey performed on 92 human sera and 105 animal sera tested respectively against 10 and 6 arbovirus antigens.

### Materials and Methods

Human and animal sera were taken during 1968-1969. They were stored at — 20° C until tested by hemagglutination-inhibition (HI) against antigens of the following viruses:

Group A arboviruses: Western equine encephalomyelitis (WEE), Sindbis (SIN);

Group B arboviruses: Tick-borne encephalitis (TBE), West Nile (WN), Dengue 1 (DEN-1);

Bunyamwera supergroup arboviruses: Bunyamwera (BUN), Tahyna (TAH);

Phlebotomus fever group arboviruses: Sandfly fever-Sicilian (SFS), Sandfly fever-Neapolitan (SFN);

Ungrouped arboviruses: Bhanja (BHA).

The preparation of antigens by sucrose-acetone extraction of infected suckling mouse brains, the adsorption of sera with kaolin and goose erythrocytes, and the HI test were done according to Clarke and Casals<sup>8</sup>.

### Results

Results of HI tests against arboviruses on 92 human sera are summarized in Table 1. 19.5% of sera were positive: no antibodies were found for group A arboviruses; 2.2% of sera reacted with WN virus among group B arboviruses; 3.3% with Tahyna virus among Bunyamwera supergroup; 8.7% and 3.2% reacted with SFN and SFS respectively, among Phlebotomus fever viruses; 4.4% of sera reacted with Bhanja virus.

The distribution of positivity by age group is presented in Table 2. HI antibodies against Phlebotomus fever viruses were found mostly in persons older than thirty years; on the contrary Bhanja antibodies were found only in younger people. However, the actual numbers of positives were too small for being significant.

The results of HI tests performed on 105 animal sera (85 goats and 20 bovines) against six arbovirus antigens are given in Table 3. No antibodies were found in cattle sera and a low percentage of positivity against Bhanja virus was found in goat sera.

TABLE 1.

## HI antibodies in 92 human sera from Campania to 10 arbovirus antigens.

Group	Virus	N: positive and titre	%
	Any virus	18	19.5
Group A . . . . .	SIN	0	—
	WEE	0	—
Group B . . . . .	WN	1 × 1:20 1 × 1:80	2.2
	TBE	0	—
	DEN 1	0	—
Bunyamwera supergroup . . . . .	BUN	0	—
	TAH (*)	1 × 1:20 1 × 1:40	3.3
Phlebotomus fevers group . . . . .	SFN	3 × 1:20 2 × 1:40 2 × 1:80	8.7
		1 × 1:160	
		SFS	
	Ungrouped . . . . .	BHA	3 × 1:20 1 × 1:40

(\*) 60 sera tested.

TABLE 2.

## HI antibodies to 10 arbovirus antigens found in 92 residents, grouped according to age.

Age group (years)	Number of persons	Number of sera reacting with arboviruses				
		Group A	Group B	Bunyamwera supergroup	Phlebotomus fever group	Bhanja
0 - 30	31	0	1	1	0	4
31 - 50	37	0	1	1	8	0
51 - 70	24	0	0	0	3	0
TOTALS . . .	92	0	2	2	11	4

TABLE 3.

## HI antibodies in 105 animal sera from Campania to 6 arbovirus antigens.

Group	Virus	Species of sera			
		Goat (85 sera)		Bovine (20 sera)	
		No. positive and titre	%	No. positive and titre	%
	Any virus	3	3.5	0	—
Group A . . . . .	WEE	1 × 1:20	1.2	0	—
	SIN	n. t.		0	—
Group B . . . . .	TBE	0	—	n. t.	
	WN	0	—	0	—
Bunyamwera supergroup . . . . .	BUN	n. t.		0	—
Ungrouped . . . . .	BHA	1 × 1: 80 1 × 1: 320	2.3	0	—

n. t. = not tested.

### Discussion

Campania region was chosen because it is located between the two regions, where natural « foci » of Bhanja virus were demonstrated<sup>3, 9, 10</sup>.

The study of a group of healthy population from this region (Neaples province) was undertaken in order to determine whether antibodies against some arboviruses were present. Animal sera were examined for a comparison with the results of human sera from the same district.

The sera survey revealed only occasional evidence of arbovirus experience: HI antibodies for SFN were more frequently detected. SFN was isolated in this area in 1944<sup>1</sup> and it seems to be the prevalent arbovirus locally. This limited survey cannot support conclusive serologic evidence of recent circulation of SFN virus, also because antibodies were found only in persons older than thirty years.

The technical assistance of Mrs. V. CHIODERA is gratefully acknowledged.

Received June 25, 1970.

M. CLOTILDE LOPES, PAOLA VERANI, MARCO BALDUCCI  
Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

GIULIANO DA VILLA  
Medical Officer, Afragola, Neaples, Italy

- <sup>1</sup> SABIN, A. B., C. B. PHILIP & J. R. PAUL. Phlebotomus (Pappataci or Sandfly) fever. A disease of military importance. Summary of existing knowledge and preliminary report of original investigations. *J. Am. Med. Assoc.*, **125**, 603-606; 693-699 (1944).
- <sup>2</sup> BALDUCCI, M., P. VERANI, M. C. LOPES, G. SACCÀ & B. GREGORIC. Isolation of Tahyna virus from *Aedes* mosquitoes in Northern Italy (Gorizia province). *Acta Virol.*, **12**, 457-459 (1968).
- <sup>3</sup> VERANI P., M. BALDUCCI, M. C. LOPES & G. SACCÀ. Isolation of Bhanja virus from *Haemaphysalis* ticks in Italy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **19**, 103-105 (1970).
- <sup>4</sup> VERANI P., M. BALDUCCI, M. C. LOPES, A. ALEMANNI & G. SACCÀ. Survey for antibodies against arthropod-borne viruses in man and animals in Italy. I. Serologic status of human beings and animals in a central Italian region (Fondi). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **16**, 203-210 (1967).
- <sup>5</sup> BALDUCCI, M., P. VERANI, M. C. LOPES & B. GREGORIC. Survey for antibodies against arthropod-borne viruses in man and animals in Italy. II. Serologic status of human beings in a northern Italian region (Gorizia province). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **16**, 211-215 (1967).
- <sup>6</sup> SANNA, A., G. FADDA, C. CHEZZI, I. MURRUZZU, G. BAGELLA & G. P. GELLI. Sull'attività degli arbovirus in alcune regioni Italiane. I. Indagine sierologica nella popolazione umana della Costa Ligure (Imperia, La Spezia), Pianura Padana (Parma, Mantova), Sardegna (Sassari). *Igiene Mod.*, **60**, 739-749 (1967).
- <sup>7</sup> BALDUCCI, M. & P. VERANI. Recent data on arbovirus circulation in Italy. In: *Seminar on Arboviruses* (Int. Virol. I, 1st Int. Congr. Virol., Helsinki 1968), Karger, Basel/New York, 1969, p. 271.
- <sup>8</sup> CLARKE, D. H. & J. CASALS. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **7**, 561-573 (1958).
- <sup>9</sup> VERANI, P., M. BALDUCCI & M. C. LOPES. Isolation of Bhanja virus in Italy and serologic evidence of its distribution in man and animals of different Italian regions. Paper presented at the Symposium on tick-borne arboviruses (excluding group B), Smolenice near Bratislava, Czechoslovakia, September 9-12, 1969.
- <sup>10</sup> Arbovirus Research Group, Istituto Superiore di Sanità, 1970, unpublished results.