

18. Zeffirino ORFEL. — Nota sulla distruzione dell'inibitore aspecifico di Francis.

Riassunto. — L'uso del virus LEE, per eliminare l'inibitore di FRANCIS, non provoca una distruzione degli anticorpi corrispondenti.

Résumé. — L'emploi du virus Lee pour éliminer l'inhibiteur de Francis ne cause pas la destruction des anticorps correspondants.

Summary. — The use of the LEE virus to eliminate FRANCIS's inhibitor does not induce destruction of the corresponding antibodies.

Zusammenfassung. — Die Verwendung des Lee-Virus zur Ausmerzung des Francis' schen Inhibitors verursacht nicht die Zerstörung der entsprechenden Gegenkörper.

La presenza di inibitori aspecifici dell'emoagglutinazione ad opera dei virus influenzali nel siero umano ed in quello degli animali più usati in laboratorio è spesso causa di falsi risultati, per cui è opportuno cercare di distruggerli. Fra i vari metodi impiegati vi è quello basato sull'osservazione di ANDERSON ⁽¹⁾ e di HIRST ⁽²⁾ secondo i quali i virus influenzali attivi distruggerebbero l'inibitore di FRANCIS, che costituirebbe la parte più importante del complesso degli inibitori resistenti al calore.

E' un metodo che viene usato per comodità di materiale. Si può avere infatti a disposizione del virus ed essere sprovvisti di sostanze che si usano normalmente per la distruzione dell'inibitore aspecifico quali filtrato di vibrione colerigeno, ^(3, 4, 5, 6, 7, 8) tripsina ^(9, 10, 11, 12, 13) periodato di potassio ^(3, 5, 14, 15, 16). Sorge però la questione se usando virus omologo si possono in parte adsorbire gli anticorpi corrispondenti. Questa nota si occupa appunto di questo problema.

MATERIALE E METODO IMPIEGATI: 1) *Siero-immune*. I sieri immuni sono stati preparati in conigli ed in hamster. L'immunizzazione dei quattro conigli usati si è ottenuta con una prima inoculazione per via endovenosa di 10 cm³ di liquido allantoideo infetto con virus influenzale ceppo LEE e con una seconda inoculazione, dopo una settimana, per via intramuscolare di 10 cm³ dello stesso materiale. Dopo venti giorni dalla prima

inoculazione i conigli sono stati salassati in bianco ed il siero raccolto e conservato in ghiacciaia a $+4^{\circ}\text{C}.$ L'immunizzazione nei due hamster usati si è ottenuta infettandoli per via nasale con virus LEE; dopo 15 giorni sono stati salassati ed il siero raccolto e conservato a $+4^{\circ}\text{C}.$

2) *Virus*. E' stato usato il virus influenzale ceppo LEE del tipo B perchè è il virus che esercita l'azione più attiva nel distruggere l'inibitore di FRANCIS ⁽¹⁾. Il virus è stato conservato in ghiacciaia a -35° per il periodo dell'esperienza; il potere infettante ($\text{DI}_{50} = 10^{7.3}$) si è mantenuto invariato.

3) *Uova incubate*. Sono state impiegate uova fecondate ed in 11^a giornata di incubazione, provenienti da galline di razza livornese.

4) *Distruzione dell'inibitore*: a) mediante contatto del siero immune anti-LEE con virus LEE secondo la tecnica di ANDERSON ⁽¹⁾: volumi uguali di siero-immune anti-LEE e liquido allantoideo infetto sono stati mescolati per tre ore alla temperatura di $42^{\circ}\text{C}.$ e quindi posti alla temperatura di $65^{\circ}\text{C}.$ per mezz'ora a bagno maria, onde distruggere il virus presente; b) mediante contatto del siero-immune con filtrato di vibrione colerico. Nelle prove si è impiegato il metodo descritto da LÉPINE ⁽¹⁷⁾.

5) *Inibizione dell'emoagglutinazione (I.E.A.)* Le reazioni di I.E.A. sono state compiute secondo il metodo descritto da SALK ⁽¹⁸⁾. In tali prove si sono usati globuli rossi di pollo al 0,5% ed otto unità emoagglutinantanti di virus. La lettura dei risultati è stata sempre compiuta dopo un'ora a temperatura ambiente. I sieri sono stati inattivati a $56^{\circ}\text{C}.$ per 30'.

6) *Siero neutralizzazione*. Le titolazioni di neutralizzazione in ovo sono state fatte usando diluizioni seriali, a ragione due, di siero inattivato ed una costante quantità di virus secondo la tecnica descritta da WALKER e HORSFALL ⁽¹⁹⁾. Per il calcolo che stabilisce la diluizione del siero neutralizzante il virus (DN_{50}) si è usato il metodo di REED e MUENCH ⁽²⁰⁾.

RISULTATI OTTENUTI E CONCLUSIONI

Dalle prove compiute si possono desumere le seguenti conclusioni:

1) I titoli della reazione di inibizione dell'emoagglutinazione, sia dei sieri trattati con virus LEE sia di quelli trattati con filtrato di vibrione colerigeno, parallelamente a quelli dei sieri controllo, non subiscono variazioni. I risultati della I.E.A. sono riassunti nella tavola n. 1.

2) La diluizione limite neutralizzante il virus (DN_{50}) dei sieri trattati con LEE e di quelli trattati con filtrato di vibrione colerico, confrontata con quella dei sieri che non hanno avuto alcun trattamento, non subisce variazione notevole, poichè i diversi valori che si osservano si possono riportare a variazioni fortuite che si hanno in seguito ad inevitabili cause di errore. I risultati della siero-neutralizzazione sono riportati nella tavola n. 2.

TAVOLA 1

Risultati della reazione d'I.E.A.

Siero	Titolo di inibizione (*)		
	nel siero non trattato	nel siero trattato con virus Lee	nel siero trattato con filtrato di vibrione colerigeno
Coniglio n. 1	640	640	640
Coniglio n. 2	1.280	1.280	1.280
Coniglio n. 3	320	320	320
Coniglio n. 4.	640	640	320
Hamster n. 1	320	320	320
Hamster n. 2.	160	160	160

(*) Valore reciproco della diluizione del siero che inibisce 8 unità emoagglutinanti di virus.

TAVOLA 2.

Risultati della siero-neutralizzazione.

Siero	Titolo di neutralizzazione (*)		
	nel siero non trattato	nel siero trattato con virus Lee	nel siero trattato con filtrato di vibrione colerigeno
Coniglio n. 1	452	505	452
Coniglio n. 2	799	905	745
Coniglio n. 3	226	252	226
Coniglio n. 4	452	399	373
Hamster n. 1	195	160	201
Hamster n. 2	97	93	97

(*) Valore reciproco della diluizione limite del siero che neutralizza circa 250 DI_{50} .

3) Si conclude che l'uso del virus LEE per la distruzione dell'inibitore di FRANCIS, seguendo la tecnica usata da ANDERSON, non comporta una distruzione degli anticorpi corrispondenti.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di microbiologia.

BIBLIOGRAFIA

- (1) ANDERSON W. - Austr. J. Exp. Biol., 26: 347 (1948).
 - (2) HIRST G. K. - J. Exp. Med., 87: 313 (1948).
 - (3) MCCREA J. F. - Austr. J. Exp. Biol. a Med. Sc., 24: 283 (1946).
 - (4) MCCREA J. F. - Austr. J. Exp. Biol. a Med. Sc., 25: 127 (1947).
 - (5) HIRST G. K. - J. Exp. Med., 87: 301 (1948).
 - (6) TYRREL D. A. T., HORSFALL F. L. jr. - J. Imm., 69: 563 (1952).
 - (7) APPLEBY J. C., STUART HARRIS C. H. - Brit. J. Exp. Path., 31: 797 (1950).
 - (8) HILLEMANN M. R., WERNER J. H. - J. Imm., 71: 110 (1953).
 - (9) FASTIER L. B. - J. Imm., 65: 323 (1950).
 - (10) MORRIS M. C. - J. Imm., 68: 97 (1952).
 - (11) MORRIS M. C. - J. Imm., 70: 39 (1953).
 - (12) WENNER H. A., JENSON M. H., MONLEY A. - J. Imm., 68: 343 (1952).
 - (13) WENNER H. A., MONLEY A., JENSON M. H. - J. Imm., 68: 357 (1952).
 - (14) HIRST G. K. - Austr. J. Exp. Biol. Med. Sc., 27: 233 (1949).
 - (15) FAZEKAS DE ST. GROTH S. - Austr. J. Exp. Biol. Med. Sc., 27: 65 (1949).
 - (16) BURNET F. M. - Austr. J. Exp. Biol. Med. Sc., 27: 361 (1949).
 - (17) LÉPINE P. - Bull. O.M.S., 8: 683 (1953).
 - (18) SALK J. E. - J. Imm., 49: 87 (1944).
 - (19) WALKER D. L., HORSFALL F. L. - J. Exp. Med., 91: 63 (1950).
 - (20) REED W., MUENCH A. - Amer. J. Hyg., 27: 493 (1938).
-