

93. Carlo MOSCOVICI. — Ricerche immunologiche sui toxoplasmi e i sarcosporidi (*).

Riassunto. — L'A. si è proposto di studiare l'esistenza di eventuali rapporti di affinità sierologica tra toxoplasmi e sarcosporidi.

Egli ha preparato, da cisti di *Sarcocystis tenella*, un antigene che si presta per l'esecuzione della reazione di deviazione del complemento con sieri di animali infetti.

Come antigene per la toxoplasmosi è stato impiegato quello di WESTPHAL. Nelle ricerche è stato utilizzato anche il *dye-test* di SABIN, impiegando per esso sia una sospensione di sarcosporidi che una di toxoplasmi.

Sono state inoltre eseguite alcune prove di immunità crociata. Da queste ricerche risulta che non esiste una affinità sierologica fra i due parassiti.

Résumé. — L'auteur a eu pour but d'étudier l'existence d'éventuels rapports d'affinité sérologique entre toxoplasmes et sarcosporides.

Il a préparé, en partant de cystes de *Sarcocystis tenella*, un antigène qui se prête à la réaction de la déviation du complément avec des sérums d'animaux infectés.

Comme antigène pour la toxoplasmosi on s'est servi de celui de Westphal. Pendant les recherches on s'est aussi servi du *dye-test* de Sabin, en employant pour lui aussi bien une suspension de sarcosporides qu'une suspension de toxoplasmes.

On a en outre fait quelques essais d'immunité croisée. De cette recherche on peut conclure qu'il n'y a pas une affinité sérologique entre les deux parasites.

Summary. — The writer set himself the task of investigating possible relations in serological affinity between *toxoplasmata* and *sarcosporides*.

He prepared, from cysts of *Sarcocystis tenella*, an antigen which is utilized in the complement binding reaction with the sera of infected animals.

Westphal antigen was employed for toxoplasmosis. Sabin's dye

(*) Comunicazione tenuta al VI Congresso Internazionale di Microbiologia - Roma, 6-12 settembre 1953.

test was also utilized in this research, using a suspension of either *toxoplasma* or *sarcosporides* for this.

In addition, some cross-immunity tests were done. From these studies it appears that there exists no serological affinity between the two parasites.

Zusammenfassung. — Absicht des Verfasser war, das eventuelle Vorhandensein einer serologischen Affinität zwischen *Toxoplasma* und *Sarcosporiden* zu untersuchen.

Aus von *Sarcocystis tenella* hervorgerufenen Zysten wurde ein Antigen hergestellt, das sich zur Durchführung der Komplementbindungsreaktion mit Seren von infizierten Tieren eignet.

Als Antigen für die Toxoplasmose wurde das Westphal'sche Antigen benutzt. Bei den Untersuchungen gelangte auch der Dye-Test von Sabin zur Anwendung, für den sowohl eine Suspension von *Sarcosporiden* wie eine Suspension von *Toxoplasmen* verwendet wurde.

Ausserdem wurden einige Versuche on gekreuzter Immunität durchgeführt. Aus den Forschungen ergibt sich, dass eine serologische Affinität zwischen den beiden Parasiten nicht besteht.

Da lungo tempo è stato notato che tra *sarcosporidi* e *toxoplasm*i esiste una notevole affinità morfologica. Allo stato attuale dei fatti non possiamo però dire quale rapporto sistematico esista tra i due gruppi, non essendo ancora esattamente conosciuto il loro ciclo evolutivo.

Abbiamo perciò voluto vedere se tra i due gruppi in questione esistessero affinità immunologiche e serologiche.

A nostra conoscenza soltanto un autore tedesco, H. MÜHLPFORDT ⁽¹⁾ ha di recente ricercato, utilizzando il *dye-test* di SABIN e FELDMAN ⁽²⁾ l'eventuale esistenza di un'affinità serologica tra i due parassiti. Egli ha usato nelle sue esperienze cavie e ratti inoculati con una sospensione di *Sarcocystis tenella*. I sieri degli animali dopo 4 e 8 settimane dall'inoculazione hanno dato — saggiati con il *dye-test* di fronte a una sospensione di *toxoplasm*i — risultato positivo al titolo di 1/25 per le cavie e di 1/200 per i ratti. L'A. ha saggiato inoltre i sieri di 45 pecore, 12 delle quali sicuramente infette da *Sarcocystis tenella*.

In questi il succitato autore ha ottenuto 22 reazioni positive a titoli varianti da 1/4 a 1/10. Tuttavia il MÜHLPFORDT non ritiene di poter

⁽¹⁾ Zeitschr. Tropenmed. Parasit. 3: 203 (1934).

⁽²⁾ Science 108: 660 (1948).

affermare in base a questi soli dati che tra toxoplasmi e sarcosporidi esista una stretta affinità serologica.

Ho voluto ripetere questi esperimenti impiegando oltre al *dye-test* anche la deviazione del complemento sia di fronte ad un antigene toxoplasmico che ad uno costituito da sarcosporidi.

Le reazioni sono state eseguite con sieri di animali trattati sia con sarcosporidi che con toxoplasmi. Per la deviazione del complemento ho impiegato l'antigene di A. WESTPHAL ⁽³⁾ per il toxoplasma, ed un antigene da me preparato con *Sarcocystis tenella* per la sarcosporidiosi. Il *dye-test* è stato eseguito secondo la tecnica di SABIN e FELDMAN. Gli antigeni sono stati saggiati con i sieri omologhi; sono state altresì praticate prove di immunità crociata.

Per poter eseguire queste prove mi sono procurato, da pecore uccise in mattatoio, cisti di *Sarcocystis tenella* che sospendevo o in soluzione fisiologica semplice o in soluzione fisiologica formulata al 2‰ nella proporzione di una cisti media per 1 cm³ di soluzione. Con cm³ 0,2 di tali sospensioni, ho inoculato per via peritoneale cavie, conigli e topini quattro volte di seguito a distanza di 5 giorni una dall'altra.

A parte preparavo poi l'antigene di *Sarcocystis tenella* operando nella seguente maniera: le cisti venivano pestate in mortaio e il loro contenuto veniva sospeso in soluzione fisiologica (10 cisti medie in 10 cm³ di soluzione); la sospensione veniva congelata a -60°C. e scongelata da 7 a 10 volte, passando dalla temperatura di -60° alla temperatura di + 18°C. Le congelazioni e le scongelazioni venivano interrotte allorchè l'esame microscopico rivelava il completo disfacimento del parassita. Si lasciava allora decantare sino a totale deposito sul fondo delle membrane cistiche, si aspirava quindi il liquido supernatante, vi si aggiungeva formalina al 3‰ lasciando la sospensione per 1 ora a 37°C. e conservandola a 4°C. Per la titolazione dell'antigene ho adoperato le comuni tecniche normalmente usate.

Parallelamente ho prelevato da topini inoculati con *Toxoplasma gondii*, il loro essudato peritoneale che sospendevo in soluzione fisiologica formulata al 3‰ in ragione di 1 cm³ di essudato per 4 cm³ di sol. fisiologica.

Con tale sospensione inoculavo per via peritoneale cavie, conigli e ratti quattro volte di seguito a distanza di 5 giorni l'una dall'altra. I Sieri di tutti gli animali inoculati con la sospensione di sarcosporidi o di toxoplasmi venivano saggiati a distanza di 45 giorni dall'inoculazione con l'antigene di WESTPHAL, con l'antigene da me preparato

⁽³⁾ Zeitschr. Tropenmed. Parasit. 3: 191 (1951).

con i sarcocisti e infine col *dye-test* di fronte a una sospensione di toxoplasmi.

Ecco i risultati:

Animali inoculati con sospensioni di *Sarcocystis tenella*.

Animali	Materiale inoculato	Deviazione del compl.		Dye-test
		Ant. Westphal	Ant. preparato coi sarcocisti	
Cavia	Sarcos. form.	—	—	—
»	» »	—	1:8 +	—
»	» »	—	1:64 +	—
»	» »	—	1:4 +	—
»	Sarcos. vivi	—	1:8 +	—
»	» »	—	1:8 +	—
»	» »	—	1:64 +	—
»	» »	—	1:4 +	—
Coniglio	Sarcos. form.	—	1:64 + 128 ±	—
»	» »	—	1:512 +	—

Animali inoculati con sospensioni di *Toxoplasma gondii*.

Cavia	Toxo. form.	—	—	—
»	» »	—	—	—
Ratti	Toxo. vivi	—	—	—
»	» »	1:5 +	—	—
»	» »	—	—	—
»	» »	—	—	—
»	» »	—	—	—
»	Toxo. form.	—	—	—
»	» »	—	—	—
Coniglio	Toxo. form.	—	—	—
»	» »	—	—	—
»	» »	1:10 +	—	—
»	» »	—	—	—
»	» »	—	—	—
»	» »	1:10 +	1:8 + (*)	—
»	» »	1:10 +	1:8 + 16 ±	—

(*) I risultati positivi degli ultimi due conigli non hanno valore perchè il loro siero era dotato di potere anticomplementare.

Ho inoltre eseguito una prova di deviazione del complemento sia con l'antigene di WESTPHAL che con quello preparato con sarcocisti sui sieri di 23 pecore naturalmente infette da *Sarcocystis tenella*. I sieri di questi animali hanno dato risultato positivo ad un titolo medio di

1:8 usando l'antigene preparato con *Sarcocystis* e negativi con l'antigene toxoplasmico.

Ho inoltre saggiato con l'antigene di WESTPHAL e con l'antigene preparato coi sarcocisti, 2 sieri umani positivi per toxoplasmosi inviati dal prof. VERLINDE da Leida. Uno di questi sieri è risultato negativo alla Westphal e positivo per l'antigene preparato dai sarcocisti. Questo siero ha dato però positiva anche la reazione di Wassermann, per cui è da ritenersi che si trovi in particolare stato di labilità colloidale, tale da non permettere di dare a queste reazioni positive un particolare valore specifico.

Per le prove d'immunità crociata, siccome la sospensione di *Sarcocystis tenella* non determina la morte degli animali inoculati, mi son dovuto limitare a trattare con sarcocisti uccisi un gruppo di 18 topini. Ogni animale ha ricevuto 4 inoculazioni di 0,2 cm³ di sospensione di *Sarcocystis tenella*, preparate come detto più sopra, ad intervalli di 4 giorni. Alla distanza di 5 giorni dall'ultima inoculazione, gli animali sono stati infettati con il *Toxoplasma*. Essi sono venuti regolarmente a morte dopo 5 giorni, così come i controlli, e con un reperto positivo per *Toxoplasma* nell'essudato peritoneale.

La stessa prova è stata eseguita su tutti gli altri animali che erano stati inoculati con sarcocisti e più precisamente su 8 cavie e 2 conigli. Anche in questi casi gli animali sono regolarmente venuti a morte con reperto di toxoplasmi nell'essudato peritoneale.

Nell'esecuzione delle mie prove ho avuto l'impressione che l'antigene di WESTPHAL alle volte non sia molto sensibile. Ad esempio i due sieri inviati da VERLINDE e risultati a questo Autore positivi sia al *dye-test* che alla deviazione del complemento con un antigene da lui preparato, mi hanno dato reazione negativa con l'antigene di WESTPHAL. Devo di conseguenza fare qualche riserva su questo antigene.

Ciò, però, non toglie validità alle nostre ricerche, giacchè noi abbiamo constatato come l'antigene di sarcosporidio non reagisca con sieri umani od animali infetti o immunizzati con toxoplasmi, come il *dye-test* sia negativo con sieri di animali infetti o immunizzati con sarcosporidi e come questi ultimi animali non risultino protetti di fronte a un'infezione da *Toxoplasma*.

Da tutto ciò si può trarre la conseguenza che tra *Sarcocystis tenella* e *Toxoplasma gondii* non esistono affinità immunologiche.