

## 7. PROVE COMPARATIVE SULL'ATTIVITÀ DI VACCINI ANTIDERMOTIFICI, PREPARATI SEGUENDO METODI DIVERSI.

E' una nozione di ben antica data quella che nelle guerre bisogna temere non meno delle armi dell'avversario, il pericolo delle epidemie. Le masse di persone costituite dai combattenti, dai profughi, dai prigionieri, affaticati, spesso denutriti, viventi in un ambiente inevitabilmente deficiente dal punto di vista igienico, costituiscono una facile preda per le malattie infettive, che spesso si propagano fra esse con fulminea rapidità, causando un alto numero di vittime.

Le attuali conoscenze sull'epidemiologia dei morbi epidemici, i progressi fatti nella profilassi specifica e generica di molti fra questi, ci hanno permesso di circoscrivere, di dominare molte fra queste malattie, sì che esse non rappresentano più quella tragica minaccia che una volta costituivano. Nella guerra attuale ad esempio, in nessun esercito, la peste, il colera, il vaiolo, hanno costituito mai un reale pericolo. C'è però ancora una malattia che è forse attualmente da considerarsi la più temibile tra quelle che la guerra alimenta e diffonde, e da cui è ancora difficile difendersi: il dermatifo.

Il pidocchio, inevitabile compagno della miseria e della sporcizia, ospite abituale dei campi di concentramento, della trincea, lo diffonde, e la lotta contro questo parassita, molto facile e semplice in teoria, incontra in pratica spesso, in certi ambienti e in certe circostanze, insormontabili ostacoli. Se la disinfestazione costituisce ancora oggi il cardine della lotta contro il dermatifo, è però logico che si sia tentato di raggiungere anche una profilassi individuale e specifica, mediante l'uso di vaccini, così come si è fatto di fronte a molte altre malattie.

Nella preparazione di un vaccino antidermotifico si incontrano però difficoltà e pericoli che sono sconosciuti nella preparazione dei comuni vaccini batterici; ciò è dovuto al fatto che nei riguardi culturali la *Rickettsia* si comporta come un virus: cresce cioè soltanto in presenza

di tessuti viventi. Si comprende così come sia oltremodo difficile ottenere in cultura grandi quantità di germi, quali sono necessarie per preparare quantità praticamente utili di un vaccino sufficientemente attivo.

Alcuni AA. ritenevano che un altro ostacolo alla pratica effettuazione di una vaccinazione fosse costituito dal fatto che la *Rickettsia* fosse capace di dare « premunizione », ma non già vera immunità. Cioè la *Rickettsia* sarebbe capace di proteggere l'organismo finchè persistesse vivente in esso, non più però dopo la sua definitiva eliminazione, e tanto meno quindi se introdotta già uccisa nell'organismo. Avverrebbe cioè qualche cosa di simile a quanto avviene nella lue. Tale opinione che portava a ritenere che soltanto un vaccino vivente potrebbe essere attivo, si è successivamente rivelata falsa: anche un vaccino ucciso è capace di proteggere l'individuo. Ad ogni modo essa è stata il punto di partenza per la preparazione e l'impiego di vaccini viventi.

Scartato, come troppo pericoloso, l'impiego di *R. prowazeki*, si è ricorsi ad una specie affine, *R. mooseri*, meno virulenta per l'uomo e capace tuttavia di dare un'immunità paraspecifica sufficientemente solida di fronte a *R. prowazeki*. Molti procedimenti sono stati proposti ed impiegati, specie da AA. francesi (Durand, Laigret, Blanc, ecc.) per attenuare e dosare esattamente tale virus, in modo da dare una immunità sufficiente, senza esporre il vaccinato ad eccessivi pericoli. Tali vaccini sono stati sperimentati su vasta scala (quasi 1.500.000 casi) specie nell'Africa settentrionale ed occidentale francese, con risultati molto soddisfacenti, tanto dal punto di vista dell'innocuità, che da quello dell'attività. Meno brillanti sono stati però i risultati ottenuti in altri paesi. Così nel Chile il vaccino vivente di Blanc ha provocato spesso seri inconvenienti ed anche qualche caso mortale. Pare che a questa diversità di reazione non sia estraneo il fattore razziale; infatti anche in Africa gli europei reagiscono alla vaccinazione in maniera molto più intensa che gli indigeni.

Per il pericolo che tale vaccinazione presenta, specie per la razza bianca, per la necessità di dover usare il vaccino quasi immediatamente dopo la preparazione, per il pericolo di diffondere il tifo murino in paesi dove è sconosciuto, non si ritenne opportuno impiegare in Europa tali vaccini, e ad essi si sono preferiti quelli costituiti da germi morti.

Il più noto ed il più sperimentato fra questi è quello di Weigl. Si prepara inoculando il germe, per via anale, a dei pidocchi, ed estraendo

dopo alcuni giorni l'intestino di tali insetti, che triturato e fenolato, costituisce, grazie al suo alto contenuto di Rickettsie, un ottimo vaccino. La preparazione di tale vaccino (occorre trattare circa 200 pidocchi per preparare una sola dose) è però molto indagginosa e estremamente pericolosa. Essa richiede istituti appositamente attrezzati, un'ingente quantità di personale, individui sicuramente immuni che nutrano su di sé i pidocchi infettati.

Il vaccino Weigl, largamente sperimentato e certamente efficace, non potrà mai essere prodotto in quantità tale da poter essere impiegato per la vaccinazione di grandi masse. Si è ricorsi perciò in questi ultimi tempi ad altri procedimenti.

Tralascio qui di parlare di alcuni procedimenti (culture su tessuti in vitro, culture alla Zinsser) che almeno finora non hanno incontrato molto successo, e mi fermerò su due tipi di vaccino che sono veramente di pratica preparazione e che possono essere allestiti su grande scala. Uno di questi si ottiene inoculando *Rickettsia prowazeki* in embrioni di pollo di pochi giorni, che vengono messi ulteriormente ad incubare. Il vaccino viene preparato sia con quasi tutto il contenuto dell'uovo (corpo dell'embrione, allantoide e sacco vitellino) sia col solo sacco vitellino. Questo procedimento, proposto da Cox, viene attualmente impiegato in Germania da Otto, Wohlrab e da Gildemeister.

Un altro tipo di vaccino è quello ottenuto dai polmoni, triturati, di topini, di conigli o di cani inoculati con la *Rickettsia* per via respiratoria. Nei polmoni di questi animali il germe si moltiplica per lo più con grande abbondanza, non inferiore a quella che si riscontra nell'intestino dei pidocchi infetti. Tale procedimento proposto da Castaneda, viene attualmente impiegato specialmente da Giroud in Francia, da Otto in Germania e da Combiescu e Zotta in Romania.

Questi due tipi di vaccino, di preparazione notevolmente più semplice che quello Weigl, non hanno però ancora avuto l'occasione di essere sperimentati in grande scala in tempo di epidemia, sì da poter dimostrare la loro efficacia.

Da un punto di vista teorico si può ritenere che il vaccino Weigl, debba essere classificato al primo posto in quanto esso è preparato con *Rickettsie* cresciute nel loro ambiente naturale: il pidocchio.

Il vaccino Durand-Giroud, come ricchezza di germi, non la cede a quello Weigl. L'ambiente in cui la *Rickettsia* si è sviluppata non è qui molto diverso da quello naturale (uomo).

Il vaccino preparato dall'embrione di pollo sembrerebbe dover essere il meno efficace, perchè in esso il contenuto di *Rickettsie* è notevolmente più scarso che in quelli precedenti, ed inoltre i germi sono cresciuti in un ambiente ben diverso da quello naturale.

In attesa che le circostanze rendano possibile una decisiva prova sull'uomo, bisogna accontentarsi delle prove che si possono eseguire sugli animali. Fra queste domina, per la sua importanza, quella dell'immunizzazione della cavia.

Giroud, Otto e Wohlrab, Cox, Combiescu e Zotta hanno eseguito tali prove e hanno dimostrato che, se pure non sempre e non completamente, i loro vaccini sono capaci di proteggere la cavia dal dermatifo. Tale protezione si esplica, nei casi più favorevoli, con la non comparsa della tipica curva febbrile data in quest'animale dalla *Rickettsia*; più spesso però, la curva febbrile compare, ma più tardivamente che nei controlli, raggiungendo valori meno elevati e una durata minore. Il comportamento degli animali vaccinati dipende parecchio dalla dose maggiore o minore del virus inoculato, dose che è sempre difficile poter determinare e valutare.

Cox, nelle sue esperienze, considera protette le cavie che non superano i  $39,7^{\circ}$  dopo l'iniezione del virus. Delle 106 cavie trattate con 2-3 dosi dei suoi vaccini, 82 risultano protette. Devo però rilevare che la temperatura di  $39,7^{\circ}$  è notevolmente maggiore della temperatura media della cavia normale, e che quindi in tali casi la protezione ottenuta è soltanto parziale.

Otto e Wohlrab, proteggono col loro vaccino completamente 9 e parzialmente 20, delle 38 cavie trattate. Risultati ancora migliori sono ottenuti in cavie inoculate con un vaccino preparato con *R. mooseri*.

Combiescu e Zotta riescono pure ad immunizzare con i loro vaccini preparati dal polmone di topini e di cani, un'alta percentuale di cavie.

Giroud (comunicazione orale) ha ottenuto pure buoni risultati con i suoi vaccini, e la loro efficacia è stata confermata anche da indagini serologiche sui vaccinati (prove di agglutinazione secondo Weigl, testo di seroprotezione, intradermoreazione).

Manca però nella letteratura, per quanto io sappia, una prova comparativa di questi vari tipi di vaccino, e mi è parso perciò non inutile eseguirla (\*).

In queste prove non è possibile sperimentare su di un grande numero di cavie, perchè al momento di inoculare il virus, bisogna eseguire in breve tempo tutte le iniezioni per evitare un'attenuazione del virus che renderebbe impossibile trarre dalla prova un giudizio comparativo. Nelle mie prove mi sono limitato ad usare 10 animali di 300-350 gr. di peso, per ogni tipo di vaccino saggiato. Questi sono stati i seguenti (\*\*):

		Data di preparazione
Vaccino preparato da polmoni di coniglio (Giroud)	T.M.F.L. 84	1941
Vaccino preparato da polmoni di topino (Istituto superiore di sanità) . . . . .	S 1 e S 2	I-42
Vaccino preparato da embrioni di pollo (Otto) .	I. 27	XI-41
Vaccino secondo Weigl (preparato da Weigl a Lwow) . . . . .	S 333	IV-40
Vaccino secondo Weigl (preparato da Eyer a Cracovia) . . . . .	S 54	III-41

Tutti questi vaccini erano stati conservati in ghiacciaia fino al momento dell'uso. Con ciascuno sono state eseguite 3 iniezioni, a distanza di 5 giorni l'una dall'altra. Le dosi inoculate sono state per i primi 3 vaccini 0,5 - 0,5 e 1 cc., per i due ultimi una intera fiala di I°, II°, III° grado.

Dopo l'iniezione venne giornalmente misurata la temperatura degli animali. Questa, rimasta pressochè invariata dopo la prima iniezione. subì un lieve aumento dopo la seconda e uno più notevole, dopo la terza. L'ipertermia fu minima con il vaccino di Giroud, massima con quelli secondo Weigl. Le reazioni locali per lo più furono assenti; si ebbero, ma

(\*) Mentre il presente lavoro era in corso di stampa, è comparsa una pubblicazione di Otto e Bickardt (Zeitschr. f. Hyg., vol. 123, p. 717, 1942), in cui vengono esposti i risultati ottenuti in una serie di simili prove comparative. Tali risultati corrispondono a quelli da me ottenuti.

(\*\*) Ringrazio i Proff. Otto e Giroud per avermi gentilmente fornito il vaccino che mi è servito per queste prove.

di trascurabile importanza in qualche singola cavia dei gruppi inoculati con il vaccino di Giroud, con quello dell'I. S. di Sanità e con quello di Weigl.

Ventidue giorni dopo l'ultima iniezione, le cavie vaccinate ed un gruppo di 10 cavie di controllo, furono infettate con *R. prowazeki* (ceppo Krakau: 0,5 cc. in peritoneo di una sospensione di un cervello di cavia in 80 cc. di soluzione fisiologica. Cavia in X<sup>a</sup> giornata, temperatura 40,8°).

L'inoculazione fu eseguita rapidamente, sì che le 60 cavie furono inoculate in 9'. Si osservò inoltre la precauzione di inoculare alternativamente una cavia per ciascun gruppo.

Tutte le cavie di controllo ammalarono con curva termica tipica, mentre quelle vaccinate dimostrarono di possedere una certa protezione.

Nel valutare i risultati ottenuti, ritengo di adottare un criterio più rigoroso di quello di Cox, col considerare completamente protette le cavie la cui temperatura non superi i 39°, parzialmente protette quelle che non superano i 39,5°, non protette le rimanenti.

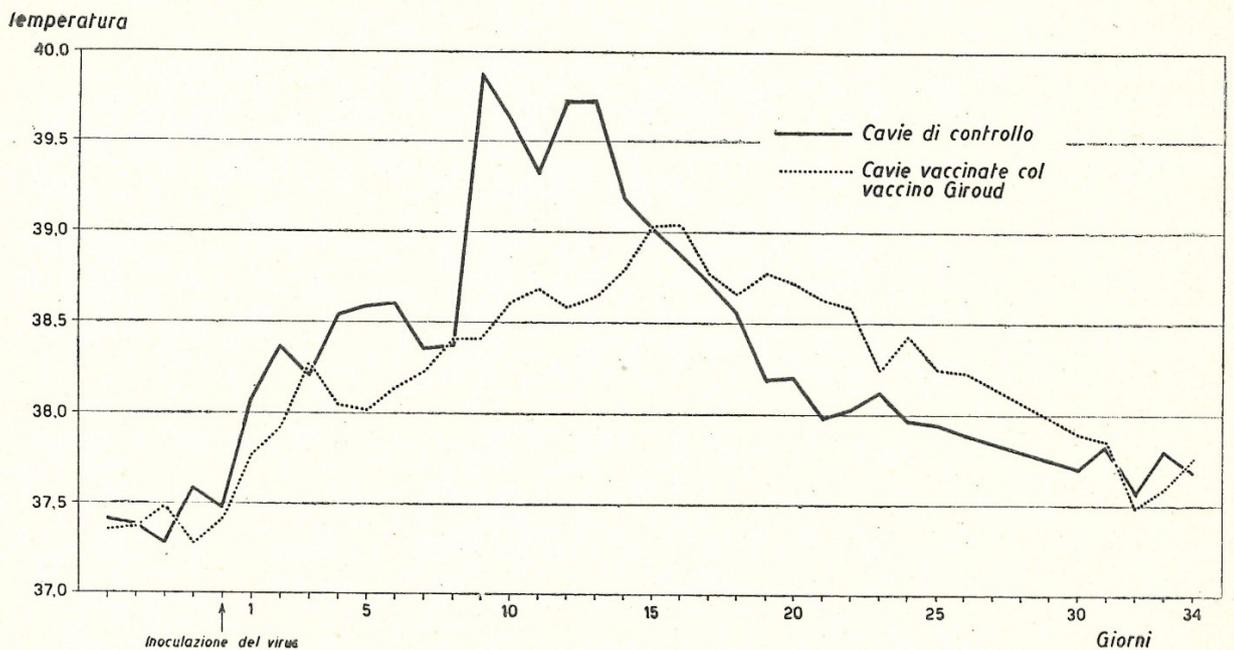
Nella tabella sottostante raggruppo i risultati ottenuti:

Vaccini usati	N. delle cavie	Completamente protette (temperatura < 39°)	Parzialmente protette (temperatura < 39,5°)	Non protette (temperatura > 39,5°)	Durata media della febbre (oltre 39°) in giorni
Giroud . . . . .	10	3	6	1	2,2
I. S. S. . . . .	10	2	6	2	1,9
Otto . . . . .	9	3	6	0	0,78
Weigl - Lwow . . . .	9	3	5	1	1,4
Weigl - Cracovia . . .	9	0	8	1	3
Controlli . . . . .	10	0	0	10	6,3

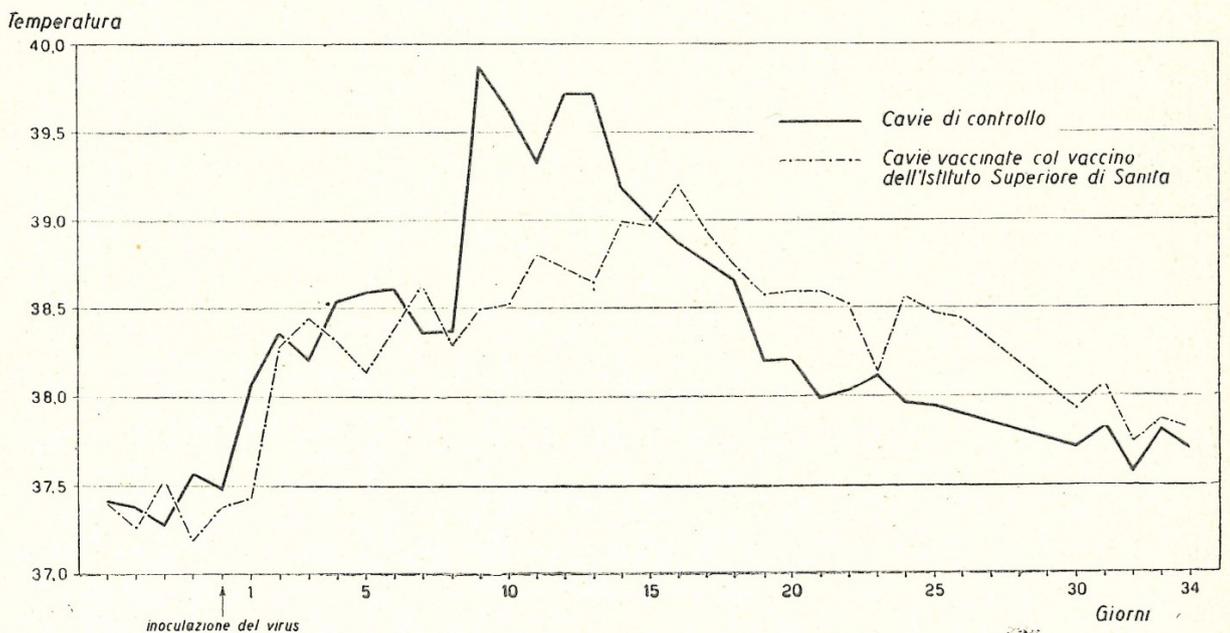
Nei grafici seguenti riporto il decorso della temperatura delle cavie dei singoli gruppi, raffrontato a quella delle cavie controllo.

Come risulta dalla tabella e dai grafici, tutti i vaccini sperimentati si sono dimostrati attivi. In ogni caso la massima parte degli animali ha dimostrato di essere per lo meno parzialmente protetta, in quanto che in essa la temperatura non ha raggiunto gli alti valori delle cavie controllo e la durata del periodo febbrile è stata minore. Anche le cavie considerate come non protette, in realtà hanno dimostrato una qualche, sia pur lieve protezione. Infatti fra di esse una sola (vaccino Giroud) ha raggiunto i 40°, mentre ben 8 delle cavie controllo raggiungevano o superavano tale temperatura.

Dai grafici si rileva inoltre che l'acme del periodo febbrile nelle cavie vaccinate è stato raggiunto più tardi che in quelle controllo: si è, cioè,

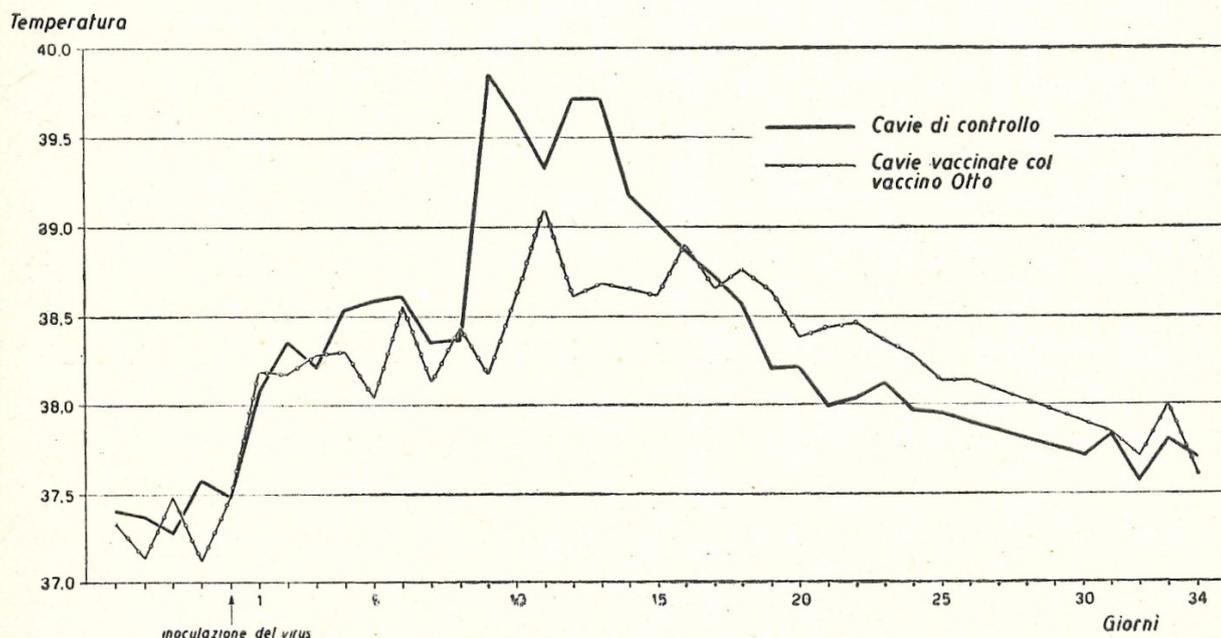


constatato un ritardo nella comparsa della febbre, fenomeno questo rilevato anche da Otto. In compenso il ritorno alle temperature normali avviene più rapidamente nelle cavie controllo che in quelle vaccinate.

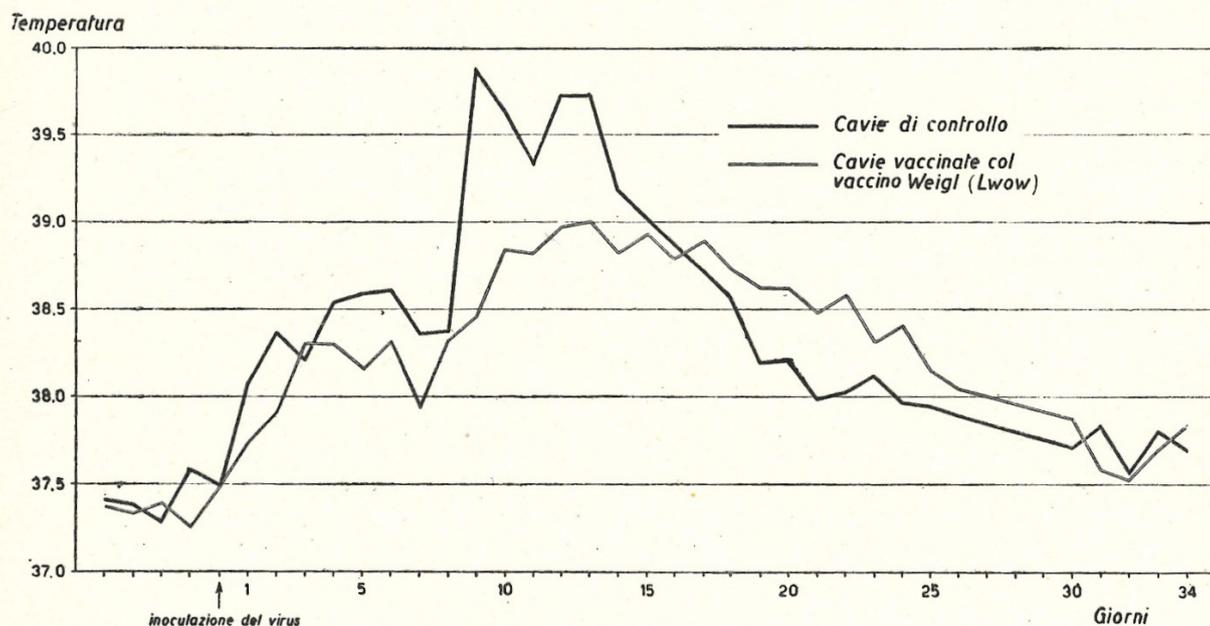


Per quanto riguarda l'efficacia dei singoli tipi di vaccino, pur tenendo conto del numero relativamente scarso di cavie su cui ho lavorato, si può ritenere che, contrariamente alle aspettative, il vaccino ottenuto dagli embrioni di pollo, è stato quello che ha dato i migliori risultati.

Per spiegare l'attività del suo vaccino, che pure è piuttosto scarso di Rickettsie, Otto ammette l'ipotesi che in esso possano essere contenute



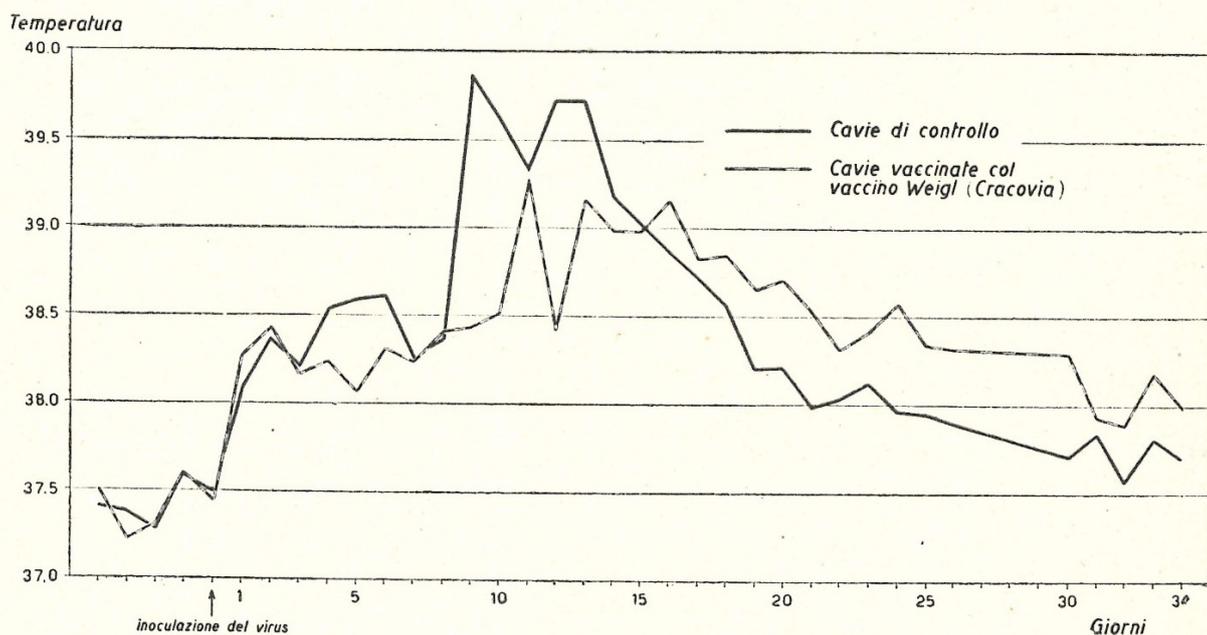
delle tossine, che agirebbero esse pure come antigeni. A mio parere è forse più plausibile l'ipotesi che tale vaccino venga potenziato dalla pre-



senza in esso di sostanze aspecifiche, e specialmente dal tuorlo d'uovo. Esempi simili non mancano nelle vaccinazioni con batteri e con tossine e anatossine (Ramon).

I vaccini preparati dai polmoni e quello preparato dal Prof. Weigl, all'incirca si equivalgono, mentre il vaccino tipo Weigl, preparato a Cracovia, pur essendo di data più recente di quello proveniente da Lwow, risulta un po' meno attivo di quelli precedenti.

Naturalmente, nel trarre queste deduzioni dai risultati, non bisogna dimenticare che in esperimenti eseguiti su di un numero non rilevante di animali, il fattore caso ha una notevole importanza, e quindi piccole differenze della reattività individuale dei singoli animali, possono spostare



di qualche po' in un senso od in un altro, il giudizio. Ad ogni modo credo che queste prove siano sufficienti per dimostrare che i nuovi vaccini contro il dermatifo, preparati con procedimenti relativamente semplici, sono per lo meno pari, come efficacia, a quello Weigl.

Questa constatazione ha una grandissima importanza pratica, in quanto ci può far sperare che con i nuovi vaccini, che si possono produrre in grande quantità, si possa arrivare a vaccinazioni in massa, quali non si sarebbero mai potute fare con il complesso e costoso vaccino Weigl.

#### RIASSUNTO

L'A. compara l'attività di vari tipi di vaccini antidermotifici e dimostra che i nuovi vaccini (da embrione di pollo, da polmoni di topini

o di coniglio) non sono, per lo meno sugli animali, meno attivi del classico vaccino di Weigl.

#### SUMMARIUM

Auctor, comparatis compluribus vaccinorum antidermotyphicorum generibus, probat novissima vaccina, quae vel de pulli gallinacei fetu vel de caviae aut cuniculi pulmone extrahuntur, non minus — in animalibus quidam — activa esse quam notissimum illud Weigli vaccinum.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Batteriologia.

