

Caporale V.P., Restuccia A., Di Matteo A., Nannini D., Urbani G. - ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI FRAZIONI ANTIGENICHE DEL TRYPANOSOMA EQUIPERDUM (ISOLATION AND TYPING OF ANTIGENIC FRACTIONS OF TRYPANOSOMA EQUIPERDUM).

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" Teramo Sezione V. Diversi autori hanno frazionato il Trypanosoma equiperdum identificando in grossi complessi costituiti da proteine, acidi nucleici, poliossi e lipoidi le frazioni dotate di potere antigenico. Nel presente lavoro si è cercato di: 1) valutare quantitativamente i rapporti esistenti tra i vari componenti somatici del parassita dotati di potere antigenico; quest'ultimo definito come capacità di legarsi ad anticorpi preformati; 2) valutare se l'attività antigenica fosse presente anche in frazioni in cui polisaccaridi e lipoidi fossero assenti; 3) mettere a punto tecniche di rivelazione di attività antigene-anticorpo di alta sensibilità. Il T. equiperdum, coltivato su sangue di ratto, è stato purificato, sonicato e frazionato mediante cromatografia su colonna di Sephadex G-100 superfine. Le frazioni eluite sono state quindi saggiate mediante analisi sierologiche e chimiche.

| N. Fraz. | Costituenti chimici e loro concentrazione |                |                      |                  |                     |                 |                      | Prove sierologiche |     |    |     |
|----------|---|----------------|----------------------|------------------|---------------------|-----------------|----------------------|--------------------|-----|----|-----|
|          | RNA<br>µg/ml                              | Prot.<br>µg/ml | Rapporto<br>Prot/RNA | Lipoidi<br>µg/ml | Rapporto<br>Lip/RNA | Polis.<br>µg/ml | Rapporto<br>Pol./RNA | ELISA              | DDC | GD | IEO |
| 1        | 2,4                                       | 10             | 4,1                  | N.R.             | N.R.                | 50              | 20,8                 | -                  | -   | -  | -   |
| 2        | 29,8                                      | 15             | 0,5                  | N.R.             | N.R.                | 45              | 1,5                  | -                  | -   | -  | -   |
| 3A       | 48,0                                      | 406            | 8,4                  | 17,0             | 0,3                 | 60              | 1,2                  | +                  | +   | +  | +   |
| 3B       | 16,5                                      | 460            | 27,8                 | 40,0             | 2,5                 | 495             | 30,0                 | +                  | +   | +  | +   |
| 3C       | 5,7                                       | 204            | 35,7                 | 5,4              | 0,9                 | 130             | 22,8                 | +                  | -   | +  | +   |
| 3D       | 2,8                                       | 102            | 36,4                 | 13,6             | 4,8                 | 400             | 143,0                | +                  | -   | -  | +   |
| 4        | 14,0                                      | 54             | 3,8                  | 10,0             | 0,7                 | 104             | 7,4                  | -                  | -   | -  | -   |
| 5        | 14,8                                      | 37             | 2,5                  | 17,0             | 1,1                 | 52              | 3,5                  | -                  | -   | -  | -   |
| 6A       | 22,4                                      | 57             | 2,5                  | N.R.             | N.R.                | N.R.            | N.R.                 | +                  | -   | -  | -   |
| 6B       | 22,4                                      | 66             | 2,9                  | 7,0              | 0,3                 | N.R.            | N.R.                 | -                  | -   | -  | -   |
| 6C       | 14,5                                      | 62             | 4,2                  | 30,0             | 2,0                 | 130             | 9,0                  | -                  | -   | -  | -   |

LEGENDA: ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay; DDC: Deviazione del Complemento; GD: Gel Diffusione; IEO: immuno-osmo-elettroforesi; N.R.: non rilevabile; Proteine: Metodo Polin; Polisaccaridi: Metodo Antrone; RNA: Rapporto E 260/280 nm.

In tutte le prove si è usato siero di cavallo naturalmente infetto con T. equiperdum contenente 1.000 unità fissanti il complemento. Le frazioni che hanno dato risultati positivi con tutte le prove sono state quelle contenenti la maggiore concentrazione di proteine, ovvero le frazioni 3A e 3B. Mediante l'ELISA si è evidenziata attività antigenica, inoltre, nelle frazioni 3C, 3D e 6A. Sulla base dei risultati ottenuti è possibile concludere che: 1) l'attività antigenica del T. equiperdum nei confronti dell'immunità umorale è legata prevalentemente a frazioni somatiche del parassita complesse e contenenti glicoproteine, RNA e lipoproteine; 2) l'attività antigenica è presente in frazioni, in cui le lipo e le glicoproteine sono assenti; 3) l'ELISA rileva la presenza di antigene non evidenziabile con altre tecniche utilizzate.