

# COMMENTO SU MONTAGNIER

**Eleni Papadopulos-Eleopulos *et al.***

***Continuum, inverno del 1997***

Vorremmo ringraziare Djamel Tahi e Huw Christie per averci chiesto di commentare le risposte del professore Luc Montagnier nella sua intervista con Djamel Tahi. Prima di fare il commento abbiamo pensato che sarebbe utile cominciare con una breve analisi dei metodi impiegati per provare l'esistenza dei retrovirus, e le prove del 1983 di Montagnier *et al* riguardo l'esistenza 'dell'HIV'.

## **Metodi adoperati per provare l'esistenza dei retrovirus**

Generalmente si accetta che Peyton Rous scoprì i retrovirus nel 1911, quando indusse tumori maligni nei polli attraverso iniezioni di filtrati privi di cellule ottenuti da un tumore muscolare. Esperimenti simili furono ripetuti da diversi ricercatori ed i filtrati indotti dai tumori furono resi noti come agenti filtrabili, virus filtrabili, agenti di Rous, virus di Rous. Tuttavia, lo stesso Rous espresse dubbi riguardo al fatto che gli agenti che causavano i tumori fossero (in realtà) infettivi. In verità, Rous avvertì che, 'La prima tendenza sarà quella di considerare l'agente auto perpetuante attivo in questo sarcoma del pollo come un piccolissimo organismo parassita. L'analogia con diverse malattie infettive dell'uomo e degli animali inferiori, causata da organismi ultramicroscopici, suffraga questa visione delle risultanze e, attualmente, il lavoro viene indirizzato per la sua verifica sperimentale. Comunque non è impossibile un'azione di altro tipo. E' plausibile che una sostanza chimica stimolante, prodotta dalle cellule neoplasiche, possa causare il tumore in un altro ospite e, di conseguenza, possa provocare una ulteriore produzione della medesima sostanza stimolante'.(1)

Nel 1928, A E Boycott, presidente della Reale società di medicina, Sezione di patologia, nel suo Discorso presidenziale intitolato 'La transizione dalla vita alla morte: la natura dei virus filtrabili', disse: 'Un altro fenomeno analogo ci porta, penso, ad un ulteriore livello. I prodotti dell'autolisi delle cellule morte nel corpo, in una concentrazione idonea, stimolano la crescita tissutale. E' un meccanismo meraviglioso di auto regolazione nel quale la quantità di stimolo è proporzionale alla quantità di distruzione delle cellule, e quindi alla quantità di crescita cellulare richiesta, ed è ovviamente di grandissima importanza per la sopravvivenza – un fattore molto più potente nella selezione ed evoluzione di qualsiasi precedente malattia. Come avviene normalmente nella guarigione delle nostre dita tagliate, il risultato finale è semplicemente la ricostruzione delle cellule che furono distrutte. Ma se la normale restrizione esercitata dai tessuti vicini viene evitata e vengono impiegate colture di tessuti, i prodotti dell'autolisi o del metabolismo (sotto forma di estratti di tessuti, tumori, o embrioni) stimolano la crescita indefinitamente e si potrebbe ottenere una molto più grande quantità di tessuto rispetto a quella con cui si iniziò. Dall'autolisi di ciò, si può ottenere una maggiore quantità di sostanza stimolante, e non sembra che ci sia alcuna ragione per cui questo processo di moltiplicazione debba avere un qualsiasi limite: i tessuti normali nell'isolamento fisico di colture di tessuti sono tanto immortali quanto i tessuti maligni nel loro isolamento fisiologico dal resto del corpo...Questi prodotti dell'autolisi...non hanno ricevuto l'attenzione dovuta, ma hanno probabilmente delle costituzioni relativamente semplici e riscontrabili. Tuttavia, quando vengono applicati alle cellule, causano crescita e, nel farlo, aumentano potenzialmente la loro stessa quantità; questo è anche ciò che fa l'agente di Rous...Per quanto riguarda l'origine, tutta l'evidenza sembra concorrere ad indicare che il virus di Rous si origina *de novo* in ciascun tumore. Non esistono prove epidemiologiche che indichino che il cancro arrivi all'organismo da fuori; tutto ciò che sappiamo appoggia la visione classica che si tratta di una malattia locale autoctona. I sarcomi sperimentali prodotti dall'estratto di embrione e dall'indolo, dall'arsenico o dal catrame sono stati trasmessi dai filtrati. Gli epitelomi vengono prodotti facilmente, nei topi, attraverso il catrame e, nell'uomo, attraverso l'irritazione cronica; e se crediamo che tutti i tumori maligni contengano più o meno un agente cancerogeno simile al virus di Rous, ne consegue che possiamo,

con un considerevole grado di certezza, stimolare i tessuti normali a produrre virus'.(2)

Dieci anni prima, in un articolo intitolato 'La teoria del plasmagene come origine del cancro', quando discuteva l'induzione del cancro attraverso l'agente di Rous, i virus filtrabili e le particelle 'auto propaganti' trasmesse per ereditarietà, ma che stanno fuori dal nucleo, riscontrate nelle piante e 'conosciute come plasmageni', Darlington scrisse: 'Verrà visto che queste infezioni sono artificiali, o almeno innaturali. Adesso la distinzione tra infezione naturale o artificiale è nota da tempo, anche se poco considerata, nella discussione dei virus delle piante. Una serie di condizioni aberranti possono essere trasmesse dal progenitore al discendente, e alcune hanno originato un discendente dopo che è stato innestato in un ceppo sano. Queste sono malattie artificiali, che in realtà vengono trasmesse solo attraverso l'innesto. Alcune possono essere originate dalla mutazione delle proteine auto propaganti nelle cellule delle piante propagate durante lunghi periodi attraverso mezzi vegetativi (come possono esserlo i tumori). Altre sono emerse, certamente, attraverso la migrazione o il trapianto di proteine da un organismo all'altro. In qualsiasi caso hanno una proprietà d'infezione che possono svelare solamente in circostanze artificiali...Quindi facciamo un grosso errore nel chiamarli virus; sono dei *provirus*...Vale la pena rispondere ad un'altra domanda: Quale forma è possibile che prenda la proteina mutante nella cellula tumorale? A causa della sua veloce moltiplicazione, potrebbe mostrare a ragione un maggiore grado di aggregazione rispetto al suo progenitore. Apparirebbe allora come una particella estranea nella cellula mutante. Ciò è avvalorato dalle osservazioni al microscopio elettronico di due agenti tumorali nei polli della classe dei provirus di Claude, Porter e Pickels (1947)'.(3)

L'osservazione al microscopio elettronico di Claude *et al* è la prima relazione riguardo a particelle simili ai virus in un tumore, le prime microfotografie elettroniche del 'virus Rous'. Subito dopo, molti altri ricercatori riferirono questi tipi di particelle in molti tumori e, come Boycott predisse, nei 'tessuti normali stimolati'. Per quanto riguarda la predizione di Darlington che quelle particelle possono essere dovute ad 'un maggior grado di aggregazione' del citoplasma, può essere interessante notare che: (a) affinché si producano le proteine, gli acidi nucleici o l'aggregazione proteine/acidi nucleici (condensazione, contrazione), è necessaria l'ossidazione;(4) (b) i tessuti tumorali sono ossidati;(4) (c) tutti gli agenti adoperati per 'stimolare i tessuti normali' a indurre i retrovirus sono agenti ossidanti.(5-7)

Negli anni 40, in seguito allo sviluppo della microscopia elettronica (EM) e della tecnica di ultracentrifugazione nei gradienti di densità, le particelle osservate nei tessuti maligni potevano essere isolate, e quindi purificate, cioè, separate da tutte le altre cose. Poiché queste particelle furono viste nei tessuti maligni, 'fu ipotizzato che le particelle costituissero l'agente eziologico della malattia' e, negli anni 50, gli agenti filtrabili di Rous si resero noti come oncovirus (onkos=tumore). La principale caratteristica morfologica di queste particelle è una ristretta gamma di diametri e la caratteristica fisica principale è la loro densità.(8) Quando l'ultrastruttura di queste particelle fu determinata, le particelle sono state definite di un diametro dai 100 ai 120nm contenenti 'corpi (cori) interni condensati' e superfici 'costellate da sporgenze (punte, protuberanze)'.(9)

Negli anni 50, dei retrovirologi rinomati, come ad esempio J W Beard, riconobbero che le cellule, comprese le cellule non infettate, sotto diverse condizioni, erano responsabili della generazione di un assortimento eterogeneo di particelle, alcune delle quali possono sembrare oncovirus. Questo 'problema delle particelle' portò all'opinione che, per provare l'esistenza di un retrovirus, 'lo schema di approccio (come fu ben illustrato da ciò che è stato concepito e rigorosamente testato nelle indagini degli agenti virali), è relativamente semplice. Ciò consiste in: (1) isolamento delle particelle d'interesse; (2) recupero (purificazione) delle particelle che sono omogenee rispetto alla classe di particella in un dato preparato; (3) identificazione delle particelle, e (4) analisi e caratterizzazione delle particelle, per riscontrare le proprietà fisiche, chimiche e biologiche desiderate'. Beard sottolineò anche che 'l'identificazione, la caratterizzazione, e l'analisi sono soggetti a discipline note, stabilite da indagini intensive, e le possibilità non sono state esaurite in alcun modo. Stranamente, è in questo campo che vengono visti i difetti più frequenti. Queste manchevolezze si relazionano, alle volte, con l'evasione

delle discipline o con la loro applicazione a materiali inadatti. Come fu previsto, una grande parte dell'interesse agli aspetti più tediosi dell'isolamento e all'analisi delle particelle è stato deviato dai processi più semplici e indubbiamente informativi della microscopia elettronica. Mentre si può imparare molto e velocemente con lo strumento, è *comunque chiaro che i risultati ottenuti adoperandolo non possono mai sostituire, e assai spesso possono oscurare, la necessità di analisi fondamentali e critiche che dipendono dall'accesso ai materiali omogenei*(10) (il corsivo è nostro).

I retrovirologi concordarono anche sul fatto che i 'Virioni dell'RTV (retrovirus) hanno una densità esuberante caratteristica, e la tecnica preferita per la purificazione dell'RTV è la centrifugazione all'equilibrio in gradienti di densità'.<sup>11</sup> In un incontro europeo sull'uso della centrifugazione nei gradienti di densità, tenuto nell'Istituto Pasteur nel 1972, dove Jean-Claude Chermann faceva il segretario, fu sottolineato che una volta che i liquidi di coltura (supernatanti) sono marcati a bande, la banda di densità nella quale vengono intrappolati i retrovirus (ciò varia leggermente a seconda della sostanza impiegata per produrre i gradienti), deve essere completamente analizzata. Il saggio consiste da quanto segue:

'Saggi per i Virus del tumore a RNA

#### **Fisici**

Microscopia elettronica (colorante negativo e sezione fine)  
Conta dei virus  
Morfologia  
Purezza

#### **Biochimici**

Transcriptasi inversa  
RNA 60-70S, RNA totale  
Proteina totale  
Analisi col gel di proteine virali e dell'ospite e acidi nucleici

#### **Immunologici**

Diffusione su gel  
Fissazione complementare\*  
Immunofluorescenza\*

#### **Biologici**

Contagiosità *in vivo*  
Contagiosità *in vitro*

\*Con reagenti specifici per gli antigeni avvolti e interni gs e env'.(12)

(La transcriptasi inversa è un enzima che è stato scoperto negli oncovirus nel 1970 (13), di qui il loro nome presente: retrovirus, e RNA 60-70S, l'RNA 'virale'. I retrovirus vengono alle volte chiamati virus tumorali a RNA, perché il loro genoma è composto da RNA e non da DNA).

Il metodo specificato nell'Istituto Pasteur nel 1972 non è dunque diverso da quello discusso da J. W. Beard due decenni prima. In verità, il metodo è logica basica applicata alla definizione di un virus. E' impossibile affermare che una proteina o un RNA sono retro virali, a meno che non si dimostri prima che questi sono costituenti di una particella e che la particella è infettiva. Come si può vedere, il primo passo è l'esame con la microscopia elettronica per dimostrare che la banda contiene particelle con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus e, come segnalavano Françoise Barre-Sinoussi e Jean Claude Chermann nell'incontro all'Istituto Pasteur, che la banda sia pura, che contenga, cioè, nient'altro che particelle che 'non hanno differenze palesi nell'apparenza fisica'.(14)

Il secondo passo nell'analisi del materiale a 1,16g/ml è provare che le particelle sono capaci di trascrivere inversamente l'RNA in DNA. Tuttavia, come Gallo stesso mise in guardia nei confronti del riscontro di particelle, anche quelle che contengono la transcriptasi inversa, è prova insufficiente per dimostrare che una particella è un retrovirus. La prova completa dipende da esperimenti che: (a) ottengono particelle da una coltura dove sono separate da qualsiasi altra cosa (isolate), che dimostrano che le particelle contengono proteine e RNA ma non DNA e che le proteine sono codificate dall'RNA (il genoma virale); (b) dimostrano che quando le particelle vengono introdotte in una coltura di cellule non infettate, le particelle entrano nelle cellule, l'RNA delle particelle viene trascritto inversamente in DNA che viene incorporato nel DNA cellulare; (c) dimostrano che queste cellule a loro volta producono particelle simili a quelle retrovirali; (d) dimostrano che le particelle prodotte da queste cellule contengono proteine e RNA che sono identici a quelli delle particelle originali introdotte nelle cellule; (e) dimostrano che le colture cellulari identiche a quelle nelle quali furono introdotte le particelle simili a quelle retrovirali non producono tali particelle, quando vengono coltivate esattamente nelle stesse condizioni, ma invece di introdurre particelle retrovirali, si introduce un altro materiale di coltura, come ad esempio le microvescicole cellulari. Ciò è perché, a differenza di qualsiasi altro agente infettivo, tutte le cellule contengono genomi retrovirali che, sotto condizioni appropriate, si possono esprimere in coltura. In altre parole, ciò può portare ad avere all'apparenza retrovirus noti come retrovirus endogeni. Ne consegue che, sia le cellule nella coltura dalla quale le particelle originali furono ottenute, sia la coltura nella quale furono introdotte, possono produrre particelle retrovirali identiche, anche se le particelle che furono introdotte non erano infettive. Di conseguenza, è assolutamente necessario avere controlli idonei.

Per provare l'esistenza di un retrovirus le particelle simili a quelle retro virali devono dunque venire isolate e analizzate due volte. La prima volta per ottenere e analizzare i costituenti delle particelle prodotte nella prima coltura, la seconda volta per provare che le particelle prodotte, semmai ce ne sia qualcuna, provenienti dalle cellule nella seconda coltura, sono identiche alle particelle ancestrali. L'avvertimento cruciale in questa procedura è l'impiego di tecniche sperimentali per controllare gli effetti della co-coltivazione, gli agenti chimici e gli altri diversi fattori che, da soli, possono indurre fenomeni retrovirali indipendenti dall'infezione retrovirale esogena.(15-17)

Per concludere, all'inizio degli anni 80, i retrovirologi concordarono che, per provare l'esistenza dei retrovirus, prima si devono isolare (purificare) le particelle candidate, ed il metodo per raggiungere ciò era attraverso la marcatura con le bande in un gradiente di densità.

### **Sintesi dell'articolo del 1983 su *Science* di Montagnier e colleghi**

Nel 1983 Luc Montagnier, i suoi colleghi dell'Istituto Pasteur ed altri ricercatori francesi pubblicarono un articolo che viene ritenuto il primo studio nel quale fu provata l'esistenza dell'"HIV". L'articolo è intitolato: 'Isolamento di un retrovirus linfotropico T da un paziente a rischio di Sindrome di immunodeficienza acquisita (AIDS)'(18), che aveva Françoise Barre-Sinoussi come autore principale e Jean Claude Chermann come secondo autore. L'affermazione degli autori di aver isolato un retrovirus, e che quindi avevano provato la sua esistenza, era basata sui seguenti esperimenti:

1. I linfociti provenienti dai linfonodi di due pazienti con linfadenopatie come anche cellule mononucleari del sangue periferico di questi pazienti 'furono messi in un mezzo di coltura insieme alla fitoemmaglutina (PHA), il fattore di crescita delle cellule T (RCGF), e l'antisiero contro l'interferone umano...Nel topo, abbiamo mostrato previamente che l'antisiero contro l'interferone poteva aumentare la produzione di retrovirus per un fattore da 10 a 50'. I supernatanti erano regolarmente analizzati per riscontrare l'attività di transcriptasi inversa (RT), adoperando il primer da stampo sintetico An.dT12-18. 'Dopo 15 giorni di coltura, fu individuata un'attività di transcriptasi inversa nel supernatante della coltura del linfonodo' di uno dei pazienti, il primo paziente. (Il livello di attività non viene dato). 'I linfociti del sangue periferico coltivati nella stessa maniera erano

consistentemente negativi nei confronti dell'attività di transcriptasi inversa anche dopo 6 settimane'. Lo stesso accadeva per entrambe le colture provenienti dal secondo paziente. Apparentemente l'individuazione di attività RT fu considerata come prova dell'infezione da un retrovirus.

2. I linfociti di un donatore di sangue adulto e sano sono stati messi in coltura (le condizioni di coltura non sono state fornite) e dopo tre giorni la metà della coltura fu co-coltivata con linfociti provenienti da una coltura del paziente nella quale fu individuata l'RT. (Le condizioni non sono state fornite). 'Si poteva individuare l'attività di transcriptasi inversa nel supernatante nel quindicesimo giorno delle co-colture', (il livello di attività non viene fornito) ma non nella coltura del donatore del sangue. (Non viene menzionato se le condizioni nella coltura del donatore del sangue erano le stesse delle condizioni della co-coltura. Tuttavia, è ovvio che le cellule del donatore del sangue non furono co-coltivate con linfociti provenienti da linfonodi di pazienti che non erano a rischio di AIDS, ma che comunque avevano anomalie cliniche e di laboratorio simili al paziente numero uno. Visto che quella co-coltivazione porta alla comparsa di retrovirus endogeni, questa è una omissione significativa del protocollo sperimentale).

3. Dei linfociti normali del cordone ombelicale furono coltivati durante tre giorni (le condizioni di coltura non sono state fornite), dopodiché sono stati aggiunti dei supernatanti provenienti dalla co-coltura e dal polibrene. 'Dopo un periodo di latenza di 7 giorni, fu individuato un titolo relativamente elevato di attività di transcriptasi inversa'. (Infatti l'attività era relativamente bassa, non più di 8.000 conteggi per minuto). E' stata riferita un'attività di sfondo che raggiungeva 4000 conteggi per minuto.<sup>(19)</sup> Le 'Colture identiche' alle quali non era stato aggiunto un supernatante, rimasero negative. (Poiché non è stato aggiunto alcun supernatante, le colture non potevano essere identiche. Poiché il supernatante proveniente da colture non infettate aggiunte alle cellule normali non infettate porta alla comparsa di retrovirus endogeni, ciò è anche una differenza significativa). Gli autori, quando commentarono le risultanze dei tre esperimenti, scrissero: 'Queste due infezioni successive mostrano chiaramente che il virus poteva propagarsi su linfociti normali provenienti sia da neonati sia da adulti'. Le conclusioni dei tre esperimenti furono anche apparentemente considerate prova dell'isolamento', comunque, 'Il fatto che questo nuovo isolato era un retrovirus, fu indicato ulteriormente dalla sua densità in un gradiente di saccarosio, che era di 1,16'.

4. L'evidenza proveniente dai gradienti di saccarosio consisteva in due parti. (a) il supernatante dei linfonodi del sangue ombelicale, nel quale fu individuata l'attività RT, fu marcato a bande nei gradienti di densità del saccarosio. Fu riferita un'attività RT massima nella banda 1,16g/ml. (b) Fu aggiunta la metionina alla coltura di linfociti del sangue del cordone nella quale fu individuata l'attività RT [35S], cioè, la metionina radioattiva, un aminoacido che viene incorporato alle catene di proteine che si sviluppano e la cui radioattività consente l'individuazione di proteine del genere. Sono stati eseguiti due tipi di esperimenti con questa coltura, uno con le cellule, e l'altro con il supernatante: (i) un estratto di cellula fu lisato (rotto) e centrifugato. Sono stati aggiunti diversi sieri a parti del supernatante cellulare (contenenti anticorpi) e le proteine sono state elettroforizzate (separate attraverso l'impiego di un campo elettrico) su un gel in una lastra di poliacrilamide-SDS. Sono state riscontrate diverse proteine che hanno reagito, non solo con i sieri provenienti dai due pazienti con linfadenopatie molteplici, ma anche con i sieri provenienti da un donatore sano e da una capra sana. (ii) il supernatante della coltura fu marcato in bande in un gradiente di densità del saccarosio. Anche se non vengono menzionati degli studi EM della banda 1,16g/ml, si affermò che la banda fu fatta reagire con i sieri dei due pazienti così come dei due donatori del sangue sani, e che fu trattata nella stessa maniera con la quale fu trattato l'estratto cellulare. Anche se nei manoscritti pubblicati è virtualmente impossibile distinguere proteine che reagiscono con qualsiasi siero, anche con sieri provenienti dai due pazienti, si afferma nel testo che '*quando il virus purificato, marcato [la banda 1,16g/ml] fu analizzato [fatto reagire con i sieri], furono viste tre proteine importanti: la proteina p25 e le proteine con pesi molecolari di 80.000 e 45.000. La proteina 45K può essere dovuta a contaminazione del virus attraverso l'actina cellulare che era presente negli immunoprecipitati di tutti gli estratti cellulari*'. (il corsivo è nostro) Gli studi EM della coltura dei linfociti del sangue del cordone 'mostrarono particelle immature caratteristiche con una

gemmazione (di tipo C) densa e crescente sulla membrana plasmatica...Il virus è un virus tumorale a RNA di tipo C tipico'.

## Commenti alle risposte di Montagnier

A1. 1 Se 'la coltura, la purificazione del materiale per ultracentrifugazione, le fotografie con la microscopia elettronica (EM) del materiale che marca in bande alla densità dei retrovirus, la caratterizzazione di quelle particelle, la prova della contagiosità delle particelle' non è un vero isolamento, allora perché Montagnier ed i suoi colleghi affermarono nel 1983 di aver isolato l'HIV o eseguendo o affermando di aver eseguito tutte queste procedure tranne una (nessuna fotografia EM del materiale marcato a bande)? Perché nell'articolo del 1984, dove loro affermarono il primo isolamento dell'HIV dagli emofiliaci, così come in altri articoli dello stesso anno nei quali loro affermano anche l'isolamento dell'HIV, hanno eseguito o affermavano di aver eseguito tutti questi passi eccetto uno? (20-21) Perché nel loro studio intitolato 'Caratterizzazione della DNA polimerasi dipendente dall'RNA di un nuovo retrovirus umano linfotropico T (virus associato alla linfadenopatia)' (22) affermarono che il virus era stato 'purificato su un gradiente di saccarosio adoperando la centrifugazione isopicnica (8)'? Il riferimento 8 è l'articolo presentato da Sinoussi e Chermann nel Convegno Pasteur del 1972, dove sottolinearono l'importanza di dimostrare che il materiale marcato a bande conteneva soltanto particelle che 'non avevano differenze apparenti nelle apparenze fisiche'. (14)

2. Il ritrovamento di alcuni o di tutti i fenomeni che delinea Montagnier non sono prova di isolamento. Questi fenomeni possono essere considerati soltanto prova per il riscontro virale e poi, se e solo se, sono specifici dei retrovirus. La parola 'isolamento' deriva dal latino 'insulatus' che significa 'trasformare in un'isola'. Si riferisce all'azione di separare un oggetto da tutta la materia estranea che non è quell'oggetto. Qui, l'oggetto di interesse è una particella retrovirale. Le parole 'isolamento' e 'trasmissione' hanno significati differenti e distinti. 'Isolare' significa ottenere un oggetto, ad esempio una particella retrovirale, separata da qualsiasi altra cosa. 'Trasmettere' significa trasferire un oggetto (che può essere isolato o no) da un luogo a un altro, ad esempio, da una coltura a un'altra. Di conseguenza, anche se si ipotizza che il 'qualcosa' che Montagnier ed i suoi colleghi trasmisero da una coltura a un'altra, attraverso cellule di trasferimento o supernatanti delle colture, era un retrovirus, e che fu trasmesso ad un infinito numero di colture successive, non è ancora un'evidenza di isolamento. Ad esempio, se si ha una serie di bottiglie con dell'acqua nelle quali la prima contiene un colorante aggiunto, poi si prende una parte della prima e la si mette nella seconda, e dalla seconda si passa un campione alla terza, eccetera, chiaramente questa procedura non ha isolato il colorante dall'acqua. Una coltura contiene una miriade di cose, perciò, per definizione, non è prova di isolamento di un oggetto. L'unico modo possibile per affermare che uno ha 'fatto una coltura del virus' è di aver avuto prove dell'esistenza del virus, prima di fare una coltura. L'unica cosa che Montagnier ed i suoi colleghi hanno dimostrato è l'emergenza di attività RT nella co-coltura con 'linfociti da un donatore di sangue'. Il riscontro di un enzima nella coltura, anche se è specifico nei confronti dei retrovirus, non è prova di isolamento. Ad esempio, la misurazione degli enzimi cardiaci o epatici, rispettivamente, nei casi di infarti miocardici o epatiti, non può essere interpretato come 'isolamento' del cuore o del fegato. La rivelazione nella coltura di particelle con caratteristiche morfologiche di retrovirus e di attività di transcriptasi inversa o nella coltura o nella banda di 1,16g/ml, anche se 'veramente specifica dei retrovirus', non è prova di isolamento retrovirale. Anche se Montagnier ed i suoi colleghi sapevano in precedenza che alcune delle proteine presenti nella coltura o nella banda di 1,16g/ml erano retrovirali, ed i pazienti avevano anticorpi retrovirali che reagivano con queste proteine, una reazione del genere non è prova di isolamento. Un argomento basato su analogie, o anche su conoscenza di altri retrovirus, non può essere inteso come prova di isolamento. Ad esempio, l'osservazione nell'Oceano di qualcosa che ha l'aspetto di un pesce (anche se è un pesce), non è l'equivalente di avere il pesce nella padella separato da qualsiasi altra cosa che c'è nell'oceano.

3. Siamo d'accordo con Gallo sul fatto che Montagnier *et al* non presentarono alcuna prova di 'isolamento vero' di un retrovirus, qualsiasi retrovirus, sia vecchio che nuovo, sia esogeno che

endogeno.

4. La 'conoscenza di altri retrovirus' dimostra che non tutte le particelle con attività RT e 'proprietà visive di retrovirus' sono dei virus. Questo è un fatto riconosciuto anche da Gallo ben prima dell'era dell'AIDS. (23) Inoltre dimostra che l'RT non è 'veramente specifica dei retrovirus'. Le cellule non infettate, così come i batteri o i virus, oltre ai retrovirus, hanno RT. Secondo alcuni dei più conosciuti retrovirologi, tra cui gli stessi scopritori della transcriptasi inversa, così come Harold Varmus, premio Nobel e direttore degli Istituti della sanità nazionale americana, le transcriptasi inverse sono presenti in tutte le cellule, compresi i batteri. (13,24-25) Infatti, l'attività RT è stata riscontrata in diverse linee cellulari, dalle quali viene 'isolato' l'HIV, compreso l'H9 ed il CEM, così come i linfociti normali, anche quando non sono infettati con l'HIV'. (26-27) Montagnier, Barre-Sinoussi e Chermann stessi hanno dimostrato che l'attività RT non è specifica dei retrovirus. Nel loro articolo del 1972, Barre-Sinoussi scrisse: 'C'era attività significativa nella zona di campione e nel picco di sedimentazione più veloce, che consisteva principalmente in rifiuti cellulari. Questa attività enzimatica può essere spiegata dalla presenza di alcune particelle di virus in queste regioni e, poiché un'attività polimerasica simile è stata riscontrata nelle cellule normali, può essere attribuita principalmente all'enzima cellulare'. In questa intervista, quando Luc Montagnier risponde alla domanda 14 dice: 'Ad esempio, un giorno ebbe un bel picco di RT, che mi dette F Barre-Sinoussi, con una densità leggermente più elevata, cioè 1,19, e ho controllato! Si trattava di un micoplasma, non di un retrovirus'. Allora, come è possibile che Montagnier dica che l'RT è specifica dei retrovirus? Siamo d'accordo che l'attività RT è caratteristica dei retrovirus. Tuttavia, 'specificità' non ha lo stesso significato di 'caratteristica'. I peli sono caratteristici degli esseri umani, ma non tutti gli animali con peli sono esseri umani.

5. Isolare significa ottenere un oggetto separato da qualsiasi altra cosa. I retrovirus sono particelle e nessuna 'analogia' può dimostrare che è stata isolata una particella retrovirale. 'La conoscenza di altri retrovirus' può essere di aiuto nello scegliere il miglior metodo per ottenere l'isolamento. La 'conoscenza di altri retrovirus' dimostra che il miglior metodo, ma certamente non perfetto, per isolare e dimostrare l'esistenza dei retrovirus, è quello di eseguire la marcatura delle bande isopicniche (densità identica di particella e porzione del gradiente) e di eseguire tutti i saggi specificati nel convegno Pasteur del 1972. Inoltre, la 'conoscenza di altri retrovirus' dimostra che non c'è niente di specifico circa la morfologia delle particelle retrovirali, delle reazioni proteina-anticorpo o anche delle marcature delle bande alla densità di 1,16g/ml nei gradienti di densità del saccarosio. Le particelle retrovirali marcano una banda alla densità di 1,16g/ml, ma non tutto a quella densità è un retrovirus, comprese le particelle che hanno la morfologia delle particelle retrovirali. (11-13,28) Per ricordare a noi stessi che le cose stanno così, possiamo prendere in considerazione soltanto il 'primo' retrovirus umano, l'HL23V'. A metà degli anni 70, Gallo ed i suoi colleghi riferirono l'isolamento del primo retrovirus umano. Infatti, le prove dell'isolamento dell'HL23V' non furono le prove di Montagnier *et al* e di tutti gli altri nei confronti dell'HIV' in almeno tre aspetti importanti. A differenza dell'HIV', nel caso dell'HL23V', il gruppo di Gallo: (a) riferì la scoperta di attività RT in leucociti freschi, non coltivati; (b) non avevano bisogno di stimolare le loro colture cellulari con diversi agenti. (Entrambi, Montagnier e Gallo, ammettono che nessun fenomeno che dimostri l'esistenza dell'HIV' può essere riscontrato, a meno che le colture vengano stimolate con diversi agenti); (c) pubblicarono una microfotografia elettronica di particelle che assomigliano ai virus che marcano bande a una densità di saccarosio di 1,16g/ml. (23-29) Tuttavia, oggi nessuno, neanche Gallo, ritiene l'HL23V' come il primo retrovirus umano, e nemmeno lo ritiene un retrovirus. (Per una discussione più dettagliata, vedi Papadopulos-Eleopoulos *et al* (30-32). Dobbiamo dimenticare la seguente conoscenza addizionale riguardo i retrovirus: (a) la lezione dell'enzima adenosin trifosfatasi. Alla pari dell'RT, questo enzima era ritenuto specifico dei retrovirus e, almeno nel 1950, fu impiegato non solo per la loro rivelazione e caratterizzazione, ma anche per la loro quantificazione. (8-11) Tuttavia, al presente, viene accettato che questo è uno degli enzimi più ampiamente diffusi. (b) una percentuale di sieri più elevata proveniente dai pazienti con l'AIDS e da quelli a rischio, reagisce con proteine di retrovirus endogeni rispetto ai sieri dei soggetti sani: il 70% contro il 3%. (33)

A2. 1 E' vero che Montagnier ed i suoi colleghi trovarono un picco di attività RT alla densità di 1,16g/ml. Tuttavia, la scoperta di questo picco non è prova che la banda fosse composta da particelle di retrovirus, sia puri che impuri. Di conseguenza, questa evidenza non può essere considerata come prova che 'è stato soddisfatto il criterio di purificazione'.

2. Sulla stessa edizione di *Science*, dove Montagnier ed i suoi colleghi pubblicarono i loro studi, Gallo segnalò che 'l'involucro virale che viene richiesto per la contagiosità è molto fragile, tende a staccarsi, quando il virus gemma dalle cellule infette, perciò rende le particelle incapaci di infettare nuove cellule'. Per questo motivo Gallo affermò che 'può essere richiesto il contatto diretto tra le cellule per l'infezione retrovirale'. (34) Ora tutti gli esperti dell'"HIV" sono d'accordo che, per la contagiosità dell'"HIV", è assolutamente necessaria la gp120. Nel 1993 Montagnier stesso disse che, affinché le particelle dell'"HIV" fossero infettive devono prima legarsi al recettore cellulare CD4 e che 'La gp120 è responsabile di legare il recettore CD4'. (35-36) Tuttavia, al giorno d'oggi, nessuno ha pubblicato fotografie EM di particelle prive di cellule che hanno la dimensione delle particelle retrovirali e che hanno anche protuberanze, punte, cioè gp120, nemmeno Hans Gelderblom ed i suoi colleghi dell'Istituto Koch a Berlino che hanno eseguito gli studi di microscopia elettronica più dettagliati delle particelle presenti nelle colture/co-culture che contengono tessuti derivati dai pazienti con l'AIDS. Su una delle loro pubblicazioni più recenti, dove viene discusso questo argomento, loro giudicano che subito dopo essere state prodotte, le 'particelle dell'HIV' hanno una media di 0,5 protuberanze per particella, ma anche segnalò che 'era possibile che delle strutture che assomigliano a protuberanze siano osservate anche quando non sia presente la gp120, cioè, falsi positivi'. (37)

Ciò significa che né Montagnier né i suoi colleghi né nessun'altra persona successivamente è stato in grado di infettare colture con cellule provenienti da donatori sani, da linfociti del cordone ombelicale o da qualsiasi altra coltura con l'"HIV purificato' o, nemmeno dai fluidi privi di cellule (il supernatante delle colture) anche se il virus 'purificato' non è nient'altro che particelle. In altre parole, è impossibile che Montagnier ed i suoi colleghi abbiano avuto una qualsiasi contagiosità, nemmeno 'una piccola' con il supernatante della coltura o con il 'virus marcato purificato'. Per la stessa ragione il 'secondo ceppo' non poteva essere stato contaminato dal 'primo'. Per di più, poiché Montagnier *et al* dettero a Gallo supernatanti privi di cellule, sarebbe stato impossibile che le colture di Gallo fossero contaminate dal BRU, dal LAI o da una miscela.

3. Il virus di Montagnier non proveniva 'da un paziente asintomatico', ma da un paziente con 'linfadenopatia e astenia'. Né nel loro studio e nemmeno oggi, dopo pressoché quindici anni dell'"HIV", esiste prova dell'esistenza di un retrovirus umano che ha la capacità di 'uccidere cellule'. Lo studio che ora viene citato più spesso come prova che l'"HIV" uccide le cellule T4, ritenuto la 'pietra miliare' dell'AIDS, è stato pubblicato nel 1984 da Montagnier ed i suoi colleghi. Loro coltivarono cellule CD4+ (T4) provenienti da un paziente emofiliaco che era un 'portatore asintomatico di un virus', 'in presenza della fitoemagglutinina (PHA) seguito dalla IL-2'. Loro riscontrarono attività RT nella coltura e 'particelle di virus caratterizzate da un piccolo core eccentrico'. Il numero di cellule T4 (CD4+), nella coltura, fu misurato attraverso il conteggio del numero di cellule capaci di legare un anticorpo monoclonale che si afferma di essere specifico per la proteina CD4. Col passare del tempo, il numero di cellule che erano in grado di farlo diminuì. Quando discussero le loro risultanze, scrissero: 'Questo fenomeno affascinante può essere dovuto ad una modulazione indotta da un virus nei confronti della membrana cellulare, o per un impedimento sterico del punto agglomerante dell'anticorpo', cioè, la diminuzione non è causata dall'uccisione delle cellule. (38-39)

Date le loro risultanze, non è sorprendente la conclusione che la diminuzione nelle cellule T4 non è dovuta all'uccisione delle cellule. Tuttavia, è sorprendente la loro conclusione che l'effetto può essere indotto dal 'virus'. Montagnier ed i suoi colleghi erano consapevoli della prova sperimentale che dimostrava che, sotto certe condizioni (compresa l'esposizione al PHA, all'IL-2 e ad altri agenti ossidanti), la diminuzione delle cellule T4 avviene in assenza dell'HIV. In questo tipo di coltura, le cellule T perdono i loro marker CD4 e acquistano altri marker, compreso il CD8, mentre il numero totale

di cellule T rimane costante. (40-43) Inoltre, avevano prove che nelle 'cellule infette, questo fenomeno non può essere riscontrato, a meno che la coltura venga stimolata con sostanze come il PHA o gli antigeni'. (Le proteine come le proteine 'non-HIV' presenti nelle colture 'infette'). (39) Dati i fatti sopra citati, sorprende ancora di più che Montagnier ed i suoi colleghi non abbiano avuto controlli, cioè, colture di cellule T4 provenienti da pazienti che non erano a rischio di AIDS, ma che tuttavia erano malati, e alle quali aggiunsero PHA e IL-2. Siffatti esperimenti furono riferiti nel 1986 da Gallo ed i suoi colleghi. Presentarono risultanze su tre colture cellulari che contenevano il 34% di cellule CD4 che, per cominciare: Una coltura era 'infettata' e stimolata con PHA, l'altra non era infettata ma era stimolata con PHA e la terza non era né infettata né stimolata. Dopo due giorni di coltura, la proporzione di cellule CD4+ nella coltura stimolata-non infettata e stimolata-infettata era del 30% e del 28% rispettivamente, mentre dopo 6 giorni il numero era del 10% e del 3%. Il numero di cellule CD4+ non cambiò significativamente nella coltura non-infettata e non stimolata. (44)

Entro il 1991 Montagnier ed i suoi colleghi avevano eseguito esperimenti con cellule non infettate e non stimolate quando studiarono l'apoptosi indotta dall'"HIV", la quale era ritenuta (e che è ancora ritenuta da molte persone), di essere il meccanismo di principio per il quale l'"HIV" uccide le cellule. Dimostrarono che, in colture cellulari CEM intensamente 'infettate dall'"HIV', in presenza dell'agente di rimozione del micoplasma, la morte cellulare (apoptosi) è massima dai 6 ai 7 giorni posteriori all'infezione, 'mentre la massimale produzione di virus avveniva dai 10 ai 17 giorni', cioè, il massimo effetto precedeva la causa massima. Nelle cellule CEM cronicamente 'infette' e nella linea di cellule monocitiche U937, non è stata riscontrata alcuna apoptosi, anche se 'queste cellule producevano continuamente un virus infettivo'. Nei linfociti CD4 isolati da un donatore normale, stimolato col PHA e 'infettato dall'"HIV' in presenza dell'IL-2, l'apoptosi diventa riscontrabile 3 giorni dopo l'infezione e chiaramente evidente al quarto giorno. 'E' intrigante, nel quinto giorno' l'apoptosi diventò riscontrabile nelle cellule 'non infette' stimolate col PHA. Loro conclusero: 'Questi risultati dimostrano che l'infezione da HIV delle cellule mononucleari del sangue periferico porta all'apoptosi, un meccanismo che potrebbe avvenire anche in assenza di infezione a causa del trattamento mitogeno di queste cellule'. (45) Per concludere, tutte le risultanze disponibili attualmente dimostrano che l'"infezione da HIV", in assenza di agenti stimolanti,

né diminuisce il numero di cellule T4 né induce l'apoptosi, mentre gli agenti stimolanti (simili a quelli a cui sono esposti i pazienti a rischio di sviluppare l'AIDS) lo fanno in assenza di 'HIV'. Cioè, né l'"HIV" che Montagnier ed i suoi colleghi 'rinvennero' all'inizio, né nessun altro 'HIV' da quel momento ha dimostrato di 'uccidere cellule'.

A3. I retrovirus non sono nozioni esoteriche, nucleari o cosmologiche la cui esistenza postulata può essere dedotta da osservazioni indirette. Sono particelle che possono essere viste, benché non ad occhi nudi. Poiché Montagnier ed i suoi colleghi ammettono che non vedono particelle nella banda 1,16g/ml che abbiano la morfologia dei retrovirus, il fatto di affermare la presenza di un retrovirus, meno ancora di un 'virus purificato', è completamente campato in aria e non è credibile. La banda 1,16g/ml può essere paragonata ad una rete da pesca. La differenza è che la banda cattura oggetti a seconda della loro densità, non a seconda della loro dimensione. Immaginate un pescatore che vede nell'oceano molti oggetti diversi, alcuni dei quali possono essere pesci. Lui butta la rete, aspetta e, quando recupera la rete, esegue un esame completo del contenuto e dimostra che contiene diverse creature marine, ma nessuna cosa che assomiglia a un pesce. Tuttavia, anche se può sembrare strano, afferma di aver catturato un pesce. Infatti, afferma che la rete non ha nient'altro che puro pesce.

A4. Nonostante il fatto che la gemmazione proveniente dalla membrana cellulare è il modo in cui appaiono le particelle retrovirali, questo processo non è specifico dei virus. In altre parole, solo perché una particella riesce a gemmare e ha le caratteristiche morfologiche delle particelle retrovirali, non dimostra che sia un retrovirus. Che questo sia il caso, viene illustrato da due fatti e dalla citazione di due dei retrovirologi più conosciuti: 'Delle particelle in gemmazione che assomigliano ai virus' sono state riscontrate in 'Linee di cellule T CEM, H9 e C8166' non infette; *'In 2 linee di linee cellulari B trasformate in EBV; e in colture di cellule linfoidi umane primarie provenienti dal sangue del cordone, che erano*

*stimolate dal PHA o no e cresciute con o senza il siero e in linfociti del cordone direttamente dopo la separazione Ficol* (46) (il corsivo è nostro). Dopo uno studio esteso e *in vivo*, eseguito da O'Hara e colleghi provenienti da Harvard, le 'particelle HIV' sono state riscontrate in 18/20 (90%) dei pazienti con nodi linfatici ingranditi attribuiti all'AIDS. Queste risultanze portarono gli autori a concludere, 'La presenza di siffatte particelle non indica per se stessa l'infezione da HIV'. (47)

Nel 1986, quando Gallo ed i suoi colleghi discussero il 'Primo isolamento dell'HTLV-III', scrissero: 'Nel momento in cui ottenemmo il LAV, c'era la controversia di diversi esperti sulla morfologia dei virus, sul fatto che le particelle mostrate dalla microfotografia elettronica pubblicata su *Science* da Barre-Sinoussi *et al* fossero un virus arena... Poiché ritenevamo che la sola rilevazione di particelle di virus nelle colture di pazienti con l'AIDS e l'ARC fosse insufficiente per confermare scientificamente la nostra ipotesi che siffatte particelle erano coinvolte nella eziologia della malattia, perciò, prima abbiamo deciso di ottenere reagenti specifici contro il nuovo virus per pubblicare risultati precisi riguardo all'eziologia dell'AIDS'. (48) Secondo Peter Duesberg, le particelle e proteine 'HIV' potrebbero rispecchiare complessivamente un materiale non virale'. (49)

A5. Montagnier ed i suoi colleghi scrissero nel loro studio: 'La microscopia elettronica dei linfociti infettati del cordone ombelicale mostrò particelle immature caratteristiche con gemmazione densa crescente (di tipo C) nella membrana plasmatica...Questo virus è un virus tumorale a RNA di tipo C caratteristico'. Nel 1984, Montagnier, Barre-Sinoussi e Chermann riferirono che il loro virus era 'morfologicamente simile a particelle D come quelle riscontrate nel virus Mason-Pfizer o nel virus recentemente isolato dalle scimmie con l'AIDS'. (38) (Entro il 1984, i ricercatori dei centri di ricerca sui primati, negli Stati Uniti, affermarono l'esistenza dell'AIDS nelle scimmie e che la causa dell'AIDS era un retrovirus di tipo D, simile al virus di Mason-Pfizer, un retrovirus di tipo D caratteristico e suggerirono che l'AIDS della scimmia e questi retrovirus potrebbero essere utili nello studio dell'AIDS umano e nell'"HIV").

Nello stesso anno, in un'altra pubblicazione ancora, Montagnier *et al* affermarono che le particelle di 'HIV' avevano una 'morfologia simile a quella del virus dell'anemia infettiva equina (EIAV), e alle particelle di tipo D'. L'EIAV ed il virus visna non sono né retrovirus di tipo C né di tipo D, ma sono lentivirus, cioè, virus che hanno una morfologia totalmente differente e che si ritiene inducano malattie molto tempo dopo l'infezione. (Nel momento in cui questo articolo fu pubblicato si riscontrò che i pazienti che avevano un test di anticorpi positivo all'"HIV" non sviluppavano immediatamente l'AIDS, cioè, c'era un ritardo tra il test positivo e la comparsa dell'AIDS). E' molto sorprendente che la morfologia dello stesso virus sia capace di cambiare genere da un tipo C, caratteristico, ad una particella di tipo D, caratteristica, e poi ad una sottofamiglia completamente differente, cioè, un lentivirus caratteristico, apparentemente a volontà. (La famiglia Retroviridae viene suddivisa in tre sottofamiglie, Oncovirinae, Lentivirinae e Spumavirinae. Gli Oncovirinae sono divisi a loro volta nei generi di particelle di tipo B, C e D. Queste risultanze sono analoghe alla descrizione di una specie di mammifero simile all'uomo, un gorilla o un orangutan).

A6 1. Oltre ai retrovirus, altre particelle possono avere 'l'assemblaggio di proprietà' (la densità, l'RT, la gemmazione e l'analogia col virus visna). Di conseguenza, la scoperta di particelle che hanno questo 'assemblaggio di proprietà' non è prova che le particelle riscontrate siano dei retrovirus. Difatti, Montagnier ed i suoi colleghi non riferirono la scoperta di particelle di 'HIV' che avevano queste 'proprietà di assemblaggio'. Poiché Montagnier ed i suoi colleghi non sono stati in grado di trovare particelle con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus alla 'densità' di 1,16 gm/ml, nemmeno dopo uno 'sforzo romano', ne segue che l'evidenza dell'esistenza dell'"HIV" dal gradiente di densità non solo non era specifica, ma nemmeno esisteva. (Questo fatto, da solo, è sufficiente per trascurare qualsiasi affermazione come prova dell'esistenza di un retrovirus, indipendentemente dalle altre cose che riscontrarono in qualsiasi posto, comprese le particelle di gemmazione provenienti dalla superficie della cellula, le particelle che somigliano ai retrovirus nella coltura, l'RT alla 'densità' o le proteine alla stessa densità che reagiscono coi sieri dei pazienti). 2. E' vero che Montagnier *et al* riferirono attività di RT alla

densità di 1,16g/ml, ma poiché: (a) Barre-Sinoussi e Chermann accettano che le cellule ed i frammenti cellulari hanno anch'esse attività di RT; (b) nella banda 1,16g/ml non è stata vista alcuna particella con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus; (c) a quella densità Montagnier *et al* riscontrarono frammenti cellulari, ne segue che l'evidenza dell'esistenza dell'"HIV" attraverso la rivelazione di attività RT a quella densità non era soltanto non specifica, ma anche inesistente. Dati i fatti che: (a) ci sono differenze significative nel carattere dei processi di gemmazione tra le particelle di tipo C, di tipo D ed i lentivirus50 e il fatto che nel 1983 Montagnier *et al* si riferirono al loro retrovirus come di tipo C e nel 1984 come di tipo C o di tipo D, e anche più tardi, quello stesso anno, come EIAV; (b) il virus visna e l'EIAV sono lentivirus, ne deriva che almeno fino a metà del 1984, le prove di Montagnier *et al* dell'esistenza dell'"HIV" (se l'"HIV" è un lentivirus) proveniente da 'fotografie di gemmazione' e l'analogia con l'EIAV e col virus visna non era solo non specifica ma addirittura inesistente.

A7. Siamo d'accordo che esistono dei retrovirus endogeni (ma è interessante il fatto che fino al 1994 'non esistono retrovirus endogeni umani' (51). Questi retrovirus endogeni non possono essere distinti dai retrovirus esogeni né morfologicamente né chimicamente. Inoltre, esistono prove che dimostrano che il 70% dei pazienti con l'AIDS e quelli a rischio, in confronto col 3% dei soggetti non a rischio, hanno anticorpi contro i retrovirus endogeni. (33) Dati questi fatti e le condizioni di coltura che Montagnier ed i suoi colleghi e tutti gli altri ricercatori dell'"HIV" impiegano per rivelare l'"HIV" insieme con le risultanze disponibili attualmente sull'"HIV" e l'AIDS, è più probabile che l'"HIV" (se si dimostrasse la sua esistenza) sia un retrovirus endogeno, piuttosto che un retrovirus esogeno.

Parte delle risultanze correlate con le condizioni di coltura possono essere sintetizzate come segue: In coltura, prima o poi le cellule cominciano a produrre retrovirus endogeni. La comparsa di retrovirus endogeni può essere accelerata e la resa può essere aumentata fino ad un milione di volte attraverso la stimolazione delle colture con mitogeni, con co-coltivazioni o mediante l'aggiunta alla coltura di supernatante proveniente da colture cellulari normali e non stimolate. Infatti, nel lontano 1976, i retrovirologi riconobbero che 'il mancato isolamento di virus endogeni da certe specie può rispecchiare la limitazione delle tecniche di co-coltivazione *in vitro*'. (52) Per rivelare l'"assemblaggio" delle 'quattro caratteristiche' dell'"HIV", Montagnier *et al* (così come tutti gli altri) impiegarono almeno due delle tecniche sopra citate. Infatti, sia Montagnier, sia Gallo ammettono che nemmeno una delle quattro 'caratteristiche' possono essere rivelate, a meno che le colture non vengano stimolate. Analogamente, parte delle risultanze vincolate all'"HIV" e all'AIDS possono essere sintetizzate nel modo seguente:

(a) E' vero che i retrovirus endogeni possano non avere un ruolo patologico nell'AIDS, ma è anche vero che, ad oggi, nemmeno esiste una siffatta prova per l'"HIV". (53) Secondo Montagnier e Gallo la 'pietra miliare' della immunodeficienza nell'AIDS è la diminuzione delle cellule T4, che si ritiene sia la conseguenza dell'uccisione delle cellule T4 dall'"HIV". Tuttavia, Montagnier ed i suoi colleghi ammettono, nel lontano 1984, che almeno *in vitro* la diminuzione osservata delle cellule T4, dopo l'infezione da 'HIV', non è dovuta all'uccisione delle cellule, ma al diminuito legame dell'anticorpo T4 (CD4) alle cellule. Due anni dopo gli esperimenti del gruppo di Gallo dimostrarono, senza dubbi, che la diminuzione delle cellule T4 (del legame degli anticorpi CD4) non era dovuta all'infezione da 'HIV', ma alla PHA che era presente nel preparato di 'HIV'. Come è stato menzionato, all'inizio dell'era dell'AIDS, c'era un'ampia prova che il trattamento delle colture cellulari con PHA e altri agenti ossidanti porta ad un legame diminuito dell'anticorpo CD4 e ad un aumentato legame dell'anticorpo CD8, cioè, una diminuzione delle cellule T4 era accompagnata da un aumento delle cellule T8, mentre il numero totale di cellule rimaneva costante. I pazienti con l'AIDS ed i soggetti che appartengono ai gruppi a rischio di AIDS vengono esposti continuamente ad agenti ossidanti potenti. Nel presente, viene accettato che, sia nei pazienti con l'AIDS, che in quelli a rischio, la diminuzione delle cellule T4 viene accompagnata da un aumento delle cellule T8, mentre il numero di cellule T4 +T8 resta costante. (53) E poi, è interessante notare che, nel lontano 1985, Montagnier scrisse: 'Questa sindrome [l'AIDS] avviene in una minoranza di persone infettate, che in genere hanno in comune un passato di stimolazione antigenica e di immunosoppressione, prima dell'infezione da LAV' (54), cioè, Montagnier riconobbe che nel gruppo a rischio di AIDS, l'immunodeficienza precede l'infezione da 'HIV'. Nel 1984 Montagnier ed

i suoi colleghi compresi Barre-Sinoussi e Chermann affermarono che 'Le prove certe necessiteranno di una sperimentazione sugli animali nella quale siffatti virus [LAV, HTLV-III=HIV] potrebbero indurre una malattia simile all'AIDS'. Finora, non esiste una sperimentazione del genere. Tuttavia, quando fu inseguito dal premio Nobel Kary Mullis, affinché presentasse almeno uno studio scientifico che provasse la teoria dell'HIV come causa dell'AIDS, Montagnier gli consigliò: 'Perché non menzioni il lavoro sul SIV' (Virus di immunodeficienza delle scimmie); (55)

(b) A differenza dei retrovirus endogeni che vengono trasmessi in maniera verticale, si ritiene che l'HIV venga trasmesso orizzontalmente, specialmente attraverso i rapporti sessuali. Infatti, al presente, viene generalmente accettato che la grande maggioranza dei soggetti siano stati infettati attraverso il contatto eterosessuale. Secondo Montagnier e Gallo, il primo studio che ha dimostrato fuor di dubbio che l'HIV è un virus trasmesso in maniera eterosessuale e bidirezionale fu pubblicato nel 1985 da Redfield *et al.* Tuttavia, su un libro pubblicato nel 1990 col titolo *AIDS e Sesso*, i suoi editori, Bruce Voeller, June Machover Reinisch e Michael Gottlieb, quando discutevano lo studio settoriale incrociato, così come altri studi simili, scrissero: 'dei ricercatori governativi pubblicarono risultanze che indicano che il personale delle forze armate americane infettato con l'HIV-1 aveva contratto il virus dalle prostitute, dando avvio a richieste di un aumento di campagne contro la prostituzione. Quando i soldati infettati sono stati intervistati dai ricercatori non militari di cui si fidavano, si rese evidente che quasi tutti erano stati infettati attraverso l'uso di droghe intravenose o il contatto omosessuale, atti per i quali potevano essere espulsi dalle forze armate, il che evitò che fossero sinceri con i ricercatori militari. In ciascuno di questi studi invalidati pubblicati, i ricercatori, gli editori di giornali e le persone che lavorano nello stesso campo non corressero errori che avrebbero dovuto essere stati riconosciuti'.

Nel 1991, Nancy Padian dell'Agenzia di epidemiologia e biostatistica dell'Università di California, ed i suoi colleghi, che ad oggi hanno eseguito i più completi studi sulla trasmissione eterosessuale, quando discussero lo studio di Redfield *et al.*, così come altri studi che affermavano di provare siffatte trasmissioni, scrissero: 'Questi studi forse non sono stati adeguatamente controllati nei confronti di altre vie di trasmissione non sessuali e infondate come i rischi associati all'uso di droghe intravenose. Di primo acchito, i casi che sembrano attribuirsi ad una trasmissione eterosessuale possono, dopo un colloquio a fondo, essere vincolati in realtà ad altre fonti di rischio... poiché gli studi associati non sono, per definizione, campioni casuali, e la maggioranza dei risultati riferiti si basa su analisi retrospettive o a sezione incrociata, alcuni studi potrebbero selezionare coppie nelle quali entrambi i partner della coppia sono infettati, perché coppie del genere possono essere identificate più facilmente, perciò condizionano i tassi di trasmissione. Inoltre, è spesso difficile stabilire la fonte d'infezione in coppie del genere. Quando sono disponibili poche risultanze potenziali, arruolando coppie monogame, nelle quali lo stato sierologico del partner è sconosciuto, come fu il caso della maggioranza delle coppie in questo studio, è uno degli unici modi per controllare questo condizionamento'. (56) In realtà, non esiste prova dagli studi eventuali, essendo pochi, che l'HIV sia trasmesso sessualmente. (57-58)

Durante il suo studio durato dieci anni, in maniera incontestabile, il più lungo e migliore studio del suo tipo, Padian (59) ed i suoi colleghi non risparmiarono alcuno sforzo nel tentativo di provare che l'HIV è trasmesso a livello eterosessuale. C'erano due parti nel loro studio, una a sezione incrociata, l'altra probabile. Nella prima, delle 360 partner femmine dei casi di indice di maschi infettati, 'La contagiosità costante, dovuta al contatto per la trasmissione dalla femmina al maschio, fu valutata del 0,0009'. I fattori di rischio per la sieroconversione erano: (i) rapporti anali. (Montagnier stesso mostrò che un test di anticorpi positivi ritorna negativo e che un conteggio di cellule T4 basso torna normale attraverso la cessazione dei rapporti anali, ciò significa che il risultato positivo non è dovuto a un retrovirus); (60) (ii) il fatto di avere dei partner che si trasmisero questa infezione attraverso l'uso di droghe (Padian stessa dice che questo significa che le donne possono essere anch'esse utenti di droghe intravenose); (iii) la presenza nella femmina di STD (anticorpi contro i loro agenti causanti) possono avere una reazione incrociata con le proteine dell'HIV'; (31) Da 82 partner maschi negativi che erano partner di femmine positive solo due hanno sofferto la sieroconversione. Hanno valutato che la possibilità di trasmissione dalla femmina al maschio era 8 volte inferiore a quella da maschio a femmina. Padian stessa questionò la validità di questi due casi. Per il primo, dette diverse ragioni nel 1991, quando il suo caso fu riferito per la prima volta. Nel secondo caso menzionarono il fatto che 'è sorprendente che la clamidia fu

trasmessa simultaneamente o vicino alla trasmissione dell'HIV', cioè, il test di anticorpi positivo all'HIV comparve al momento in cui il maschio si infettò con la clamidia.

Nello studio potenziale, che iniziò nel 1990, 'Abbiamo seguito nel tempo 175 coppie che divergono dall'HIV, per un totale di osservazioni di approssimativamente 282 coppie all'anno...La durata di osservazione più lunga fu di 12 visite (6 anni). Non abbiamo osservato sier conversionsi dopo l'ingresso nello studio...Nell'ultima osservazione, le coppie erano molto più propense all'astinenza o a usare i profilattici costantemente. ...Tuttavia, solo il 75% riferì un impiego del profilattico regolare nei 6 mesi precedenti alla loro visita finale di osservazione'. Nota: Non era stata riferita la sier conversione solo nello studio a sezione incrociata, ma tutti i casi erano stati diagnosticati prima del 1990. Tuttavia: (i) Tutti gli esperti dell'HIV sono d'accordo sul fatto che la specificità dei test adoperati allora era inferiore a quella impiegata al presente; (ii) I criteri del WB adoperati allora per definire l'infezione, al presente non sono sufficienti. Anche se si accettano le risultanze di Padian *et al* provenienti dallo studio a sezione incrociata, hanno valutato che il rischio che un maschio non infettato si contagi con l'infezione da HIV dalla sua partner femmina infettata è di 0,00011 (1/9000). Ciò significa che, in media, i maschi che hanno rapporti sessuali tutti i giorni con una partner femmina infettata, durante sedici anni (cioè, 6000 contatti, 365 all'anno), riporterebbe un 50% di probabilità di infettarsi. Se il rapporto sessuale avviene in una media settimanale, allora ci metterebbe centoquindici anni a raggiungere la stessa probabilità. Sotto quelle circostanze ci si dovrebbe domandare come l'HIV sia riuscito a diventare un'epidemia come conseguenza della trasmissione eterosessuale bidirezionale.

A8. 1. Nello studio di Montagnier *et al* del 1983, la rivelazione di nient'altro che attività RT nelle colture stimolate di linfociti originatesi da un omosessuale fu considerata prova che il soggetto era infettato da un retrovirus. Il riscontro della stessa attività nel supernatante di una co-coltura delle stesse cellule con linfociti provenienti da un donatore di sangue sano fu considerato come prova della trasmissione del retrovirus dai linfociti dell'omosessuale ai linfociti del donatore e anche come prova dell'isolamento del virus. Tuttavia, la trasmissione di una attività (RT) non è lo stesso della trasmissione di un oggetto (retrovirus).

Inoltre, poiché i linfociti non infettati dall'HIV, così come molti batteri e virus, che sono diversi dai retrovirus, hanno attività RT (l'attività RT è stata riferita in diverse linee cellulari non infettate dall'HIV adoperate per isolare l'HIV come la H9 e la CEM e, nel lontano 1972, nei linfociti normali e stimolati con la PHA), la rivelazione di attività RT in successive colture di linfociti, ciascuna delle quali contiene materiale originato dalla coltura precedente, non è nemmeno prova di trasmissione dell'attività RT. Per illustrare ciò che Montagnier ed i suoi colleghi hanno fatto, ritorniamo all'analogia del pescatore e la sua rete: Ipotizziamo che il pescatore lancia la sua rete e cattura alcune creature marine. Ne lascia alcune sulla rete come esca e poi la butta un'altra volta. Questa volta, in aggiunta alle creature marine, cattura anche alcuni pesci. Toglie i pesci, lascia alcune creature marine nella rete, la butta un'altra volta e questa volta cattura ancora più pesci. Il pescatore ripete la procedura diverse volte e ogni volta cattura più pesci. Alla pari di Montagnier *et al* che toglie le cellule e ri-adopera i supernatanti, il pescatore toglie i pesci e ri-adopera le creature marine (l'esca). Evidentemente, i pesci catturati nella rete non sono discendenti dell'esca. Il proposito dell'esca è creare le condizioni giuste, affinché i pesci compaiano sulla rete. (In realtà, i veri pescatori passano una vita intera per determinare le condizioni giuste). Tutto quello che il pescatore 'trasmette' è il mezzo per catturare i pesci, non i pesci stessi. Analogamente, Montagnier *et al* sembrano 'trasmettere' le condizioni per generare attività RT, perciò creano l'illusione di 'trasmettere' attività RT.

2. Il fatto di avere un picco di attività RT non è prova di avere la 'replicazione' di un retrovirus. Inseguire tracce di RT non è lo stesso che inseguire le 'tracce del virus'.

3. Ipotizziamo che sia stato isolato un retrovirus e sia stata provata la sua esistenza in colture con tessuti che si originano dagli esseri umani. 'La prima questione sollevata' da *Nature* è: 'Si tratta di un virus endogeno?' Solo quando si ha l'evidenza che non si tratta né di un retrovirus umano esogeno, né endogeno, si solleva la questione della 'contaminazione da laboratorio' con retrovirus animali.

4. Ciò che il paziente aveva erano anticorpi che reagivano con una proteina che, in gradienti di densità di saccarosio, marcava una banda a 1,16g/ml. Poiché a quella densità Montagnier ed i suoi colleghi non riuscirono a trovare particelle con le caratteristiche morfologiche di un retrovirus, era inesistente l'evidenza che questa proteina fosse retrovirale. Infatti, loro non avevano alcuna evidenza che la proteina fosse compresa anche nelle particelle non retrovirali, in qualsiasi particella presente a quella densità.

5. Se Montagnier ed i suoi colleghi sapevano, in qualche maniera, in precedenza, che la proteina che marcava una banda a 1,16g/ml e che reagiva col siero dell'omosessuale fosse la proteina di un retrovirus che era presente nei suoi linfociti (e non nei linfociti del donatore sano o del cordone ombelicale), e, allo stesso tempo, che gli anticorpi fossero indirizzati contro 'il suo virus', perché è stato necessario eseguire tutti questi esperimenti per provare la sua esistenza?

A9. Anche se loro avevano attività RT, alla densità di 1,16g/ml non avevano evidenza dell'esistenza di particelle retrovirali, perciò l'attività non poteva essere considerata prova dell'esistenza di siffatte particelle.

A10. Nel 1983, Montagnier, Barre-Sinoussie e Chermann ed i loro colleghi provarono l'esistenza dell'enzima transcriptasi inversa 'adoperando le condizioni ioniche descritte per l'HTLV-I', cioè, '5mM Mg<sup>2+</sup>' e 'poli(A).oligo-(dT)12-18 come primer templatò'. Queste condizioni ed il suo primer templatò possono essere caratteristiche dei retrovirus, ma non sono specifici per l'RT retrovirale né, in realtà, per qualsiasi RT. Anche prima dell'era dell'AIDS, si sapeva che questo primer templatò, sotto le condizioni adoperate da Barre-Sinoussi, Montagnier ed i suoi colleghi, può essere trascritto non solo dall'RT, ma anche dalle polimerasi cellulari a DNA. Basti menzionare lo studio intitolato: 'Caratteristiche della polimerasi a DNA dipendente dall'RNA [RT] di un nuovo retrovirus umano linfotropico T (virus associato alla linfadenopatia)' ('HIV') nel quale Montagnier, Barre-Sinoussi, Chermann e i suoi colleghi 'caratterizzarono' l'RT dell'HIV'. Lì adoperarono le stesse condizioni ioniche del 1983 e tre primer templatò 'DNA attivato', poli (A).oligo-(dT)12-18 e poli Cm .oligo-dG 12-18. Riferirono che, mentre la poli Cm .oligo-dG 12-18, un 'primer templatò specifico della transcriptasi inversa' fu trascritto soltanto dalle cellule 'infettate dall'HIV', 'DNA attivato' e poli (A).oligo-(dT)12-18 furono trascritti sia dalle cellule infettate che da quelle non infettate.<sup>22</sup> In altre parole, la rivelazione di attività RT attraverso l'impiego del primer templatò An.dT12-18 non è ancora prova dell'esistenza di RT e, ancora meno, dell'esistenza di una RT retrovirale.

A11. Niente dichiarazioni.

A12. Niente dichiarazioni.

A13. Siamo d'accordo con Montagnier che, quando vengono adoperate colture di linfociti infettate da retrovirus esogeni come l'MT2, l'MT4 e l'H9 (HUT-78), tutti quanti originati da pazienti con 'leucemia di cellule T4 di adulti', ritenuta di essere causata dall'HTLV-I, è 'un vero minestrone'. Tuttavia, data l'esistenza di retrovirus endogeni, quando si adoperano linfociti provenienti da soggetti normali e linfociti del cordone ombelicale, il risultato è ancora 'un vero minestrone'. Forse, una minestra diversa, ma comunque si tratta ancora di 'un vero minestrone'.

A14. Siamo d'accordo che i pazienti con l'AIDS e quelli a rischio sono infettati da un 'mucchio di cose'. Inoltre, le colture con tessuti provenienti da questi pazienti, in aggiunta a questi agenti, possono anche essere infettate in vitro con altri agenti, come i micoplasma.

A15. Può darsi che, alle volte, sia più facile riscontrare una particella con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus nella coltura piuttosto che nel plasma. Tuttavia, poiché il 'concentrato' virale viene ottenuto dal supernatante della coltura e poiché, per definizione, un 'concentrato' avrebbe più particelle

per unità di volume rispetto al supernatante della coltura, ne deriva che dovrebbe essere molto più facile vedere una particella nel concentrato, piuttosto che nella coltura. Poiché Montagnier ed i suoi colleghi 'non videro niente di importante' nel 'concentrato', cioè, nella banda di 1,16g/ml, allora perché nel loro articolo del 1983 affermarono che il 'concentrato' non solo conteneva particelle virali, ma un virus 'purificato'? Nella fotografia col microscopio elettronico che pubblicarono Montagnier ed i suoi colleghi, compreso Charles Dautet, ci sono gemmazioni sulla superficie della cellula, alcune delle quali sono più pronunciate delle altre. Ma qual è l'evidenza che si tratti di virus o che siano in fase di diventarne?

A16. Siamo d'accordo sul fatto che potrebbe essere qualsiasi cosa.

A17. Siamo d'accordo che l'esperienza può, alle volte, consentirci di distinguere tra particelle che sembrano retrovirali e altre particelle che sembrano virali adoperando le caratteristiche morfologiche. Tuttavia, ci sono particelle che NON sono virus (compresi i retrovirus) che esibiscono caratteristiche morfologiche identiche ai retrovirus. Perciò, a partire dalle considerazioni morfologiche, sia le gemmazioni che le particelle prive di cellule non possono essere ritenute dei retrovirus. Inoltre, le colture di tessuti derivati da pazienti con l'AIDS, contengono una pleora di particelle che sembrano virali, con diametri che vanno dai 65 ai 250nm, forme che sono sferiche, angolari e a forma di lacrima, superficie con o senza punte, e che contengono cori a forma di cono, a forma di stecca, centrosimmetrici e tubulari, così come doppi cori e una miscela di cori. Alla pari delle diverse particelle di tassonomia mutevole ritenute la particella dell'HIV, nessuna di queste particelle è stata purificata e caratterizzata e, come l'HIV, la loro origine e il ruolo devono rimanere una ipotesi. (9,61-64)

A18. Se loro non hanno purificato le particelle, perché affermano di averlo fatto e continuano ad affermarlo fino a questa intervista?

2. E' vero che riferirono il picco di attività RT alla densità di 1,16g/ml, cioè, alla densità nella quale loro affermavano di avere 'un virus purificato, marcato'. Tuttavia, come si fa ad affermare che l'attività RT 'era proprio quella di un retrovirus', se 'non raggiunsero il picco...o non ha funzionato', cioè, quando a quel picco non hanno nemmeno trovato particelle che assomigliano ai retrovirus, meno ancora retrovirus veri e propri? Per trasmettere un retrovirus da una coltura all'altra, prima si deve avere prove dell'esistenza di un retrovirus nella prima coltura. La 'trasmissione' di fenomeni non specifici non è prova della trasmissione di un retrovirus. Inoltre, poiché tutti i fenomeni che Montagnier ed i suoi colleghi considerarono come prova dell'esistenza di un retrovirus, compresa l'attività RT e le particelle che assomigliano a un virus, potrebbero insorgere *de novo* nelle colture, specialmente sotto le condizioni di coltura che adoperavano, non possono affermare la prova dell'avvenuta trasmissione di qualsiasi cosa. Come hanno fatto Montagnier ed i suoi colleghi per sapere che, se avevano controlli adeguati, gli stessi fenomeni non sarebbero successi nella coltura del donatore del sangue, così come nei linfociti ombelicali, anche se non erano 'infettati' dall'HIV?

A19. Se lo stadio di purificazione (isolamento) non è necessario, allora perché Montagnier ed i suoi colleghi affermano di aver provato l'esistenza dell'HIV perché loro lo hanno 'isolato', lo hanno 'purificato'?

2. Poiché qualsiasi pezzo di DNA può essere clonato e amplificato, la clonazione e l'amplificazione di un pezzo di DNA non fornisce alcuna informazione riguardo all'origine, cioè, se è retrovirale o no. Mediante il sequenziamento di un pezzo del DNA non è nemmeno possibile dire che è 'veramente un retrovirus', a meno che non esista una prova precedente che quelle sequenze sono presenti in una particella retrovirale e da nessuna altra parte. Non c'è alcuna cosa specifica riguardo la 'struttura dei retrovirus'. Se veramente c'è un'unica 'sequenza di DNA' che indica che 'è veramente un retrovirus' e 'tutti i retrovirus hanno una struttura genomica familiare con determinati geni', allora non esiste la tale prova per il 'genoma dell'HIV'. (32). Basti menzionare che, ad oggi, non sono state pubblicate due sequenze identiche per il 'genoma dell'HIV'. Il medesimo paziente può avere sequenze di 'DNA

dell'HIV' differenti. Secondo alcuni ricercatori dell'Istituto Pasteur, 'un paziente asintomatico può ospitare almeno  $10^6$  varianti dell'HIV distinte geneticamente, e per un paziente con l'AIDS la cifra è superiore a  $10^8$ .(65-66) Le differenze genetiche possono giungere al 40%.(67) (Confrontare questo alle differenze che vanno dall'1 al 2% tra i DNA degli ominidi, alcuni dei quali codificano per proteine identiche, come ad esempio le catene a e b dell'emoglobina degli scimpanzé e degli esseri umani). E' stato riferito che la lunghezza del 'DNA dell'HIV' va dai 9 ai 15kb. Nel 1985 i ricercatori dell'Istituto Pasteur riferirono che 'La struttura genetica dedotta è unica; dimostra, in aggiunta ai geni retrovirali *gag*, *pol* ed *env*, due nuovi e aperti schemi di interpretazione che chiamiamo Q e F'.(68) Nel 1990, si riteneva che il genoma dell'HIV fosse composto da dieci geni, (69) nel 1996 Montagnier riferì che l'HIV ha otto geni (70) e, secondo Barre-Sinoussi, (71) l'HIV ha nove geni.

A20. 1. Ai fini dell'isolamento dei retrovirus è obbligatoria la fase di purificazione. NON si POSSONO ISOLARE i retrovirus SENZA PURIFICARE. Per definizione, isolare significa 'mettere da parte o da solo' (*Dizionario Concise Oxford*) e 'purificare' significa 'eliminare elementi estranei' (*Dizionario Concise Oxford*). Perciò, a meno che non siano rimossi i contaminanti attorno alle particelle 'HIV' (cioè, purificare l'HIV), le particelle 'HIV' NON SONO ISOLATE.

2. Siamo d'accordo che, per trasmettere un retrovirus, non c'è bisogno di materiale puro. Tuttavia, per trasmettere qualcosa, prima si deve conoscere cosa si trasmette, cioè, deve esserci la prova della sua esistenza. Per i retrovirus, tale evidenza può essere ottenuta solamente attraverso l'isolamento (purificazione) delle particelle, sia mediante la determinazione delle loro proprietà fisiche e chimiche sia con la prova che sono infettive.

A21. Sì, è impossibile determinare l'identità delle proteine, compresa quella dell'RT, senza l'isolamento. 1. Montagnier ed i suoi colleghi, anche dopo uno sforzo romano, non sono riusciti a riscontrare neanche particelle che assomigliano a un retrovirus a quella densità, perciò, dalla sua esperienza (evidenza sperimentale), esiste zero possibilità e NON 999 tra 1000 che l'attività RT, alla densità di 1,15, 1,16, rappresenti, nel loro caso, un retrovirus.

2. Siamo d'accordo che potrebbe essere un retrovirus di origine diversa. L'esistenza di retrovirus endogeni, insieme alla presenza nei pazienti con l'AIDS e in quelli a rischio di anticorpi che reagiscono con i loro antigeni, significa che, anche se Montagnier *et al* avessero provato l'esistenza di un retrovirus, sarebbe stato impossibile dire che il retrovirus abbia avuto origine negli omosessuali e non nei linfociti dei donatori o del cordone ombelicale.

3. La 'biologia molecolare', la 'clonazione e il sequenziamento' del genoma dell'HIV' è stata discussa nei dettagli altrove.(32-49) Basti menzionare qui che:

(a) la prova per l'esistenza dell'HIV' e infatti per il suo ruolo causativo nell'AIDS è stata affermata prima di qualsiasi 'biologia molecolare', 'clonaggio e sequenziamento';

(b) poiché ciascun pezzo di acido nucleico può essere clonato e sequenziato, il clonaggio ed il sequenziamento di un pezzo di acido nucleico non può essere usato come prova dell'esistenza di un retrovirus o del suo genoma. Per il contrario, la prova dell'esistenza di acidi nucleici virali (RNA e cDNA virali) può essere accettata se, e solo se, viene dimostrato che il RNA è un'entità molecolare unica, che appartiene a particelle che hanno caratteristiche morfologiche, fisiche e replicative delle particelle retrovirali. Ciò può essere fatto soltanto attraverso la separazione delle particelle da tutte le altre cose, mediante la loro purificazione. Invece, Montagnier e Gallo adoperarono 'una vera minestra' di colture e co-colture (il gruppo di Montagnier ha anche infettato deliberatamente le colture col virus Epstein-Barr). Il supernatante di queste colture fu marcato con bande nei gradienti di densità del saccarosio. Da tutto l'RNA (ed il DNA) che marcò banda ai 1,16g/ml, loro scelsero arbitrariamente qualche RNA, adoperando criteri specifici completamente non retrovirali e lo chiamarono 'RNA dell'HIV', senza alcuna prova che la banda contenesse nemmeno particelle che

sembrano retrovirali; (32)

- (c) il primo passo, assolutamente necessario per provare che l'RNA dell'HIV, retrovirale o no, ebbe origine dai linfociti dei soggetti infettati dall'HIV, è eseguire esperimenti di ibridizzazione adoperando linfociti non coltivati, freschi ed il DNA dell'HIV (ottenuto attraverso la transcriptasi inversa dell'RNA dell'HIV), come sonda. E' difficile da capire perché Montagnier ed i suoi colleghi non riferirono esperimenti del genere. Il gruppo di Gallo lo fece ed i risultati furono negativi. Nel 1994 Gallo fu citato in questa rivista, dove diceva: 'Non abbiamo mai trovato il DNA dell'HIV nelle cellule tumorali di KS... Infatti, non abbiamo mai trovato il DNA dell'HIV nelle cellule T'.(72) Al presente non esiste nemmeno uno studio che dimostri l'esistenza di una singola copia del 'genoma dell'HIV per esteso' nelle cellule T fresche nemmeno di un singolo paziente di AIDS o di un paziente a rischio di AIDS; (d) Attualmente, il numero di particelle di 'HIV' nel plasma viene quantificato attraverso la misurazione dell'RNA dell'HIV, la carica virale che viene riferita di essere 'dai  $15 \times 10^3$  ai  $554 \times 10^3$  virioni per ml'.(73) Diversi studi affermano di dimostrare che la 'carica virale', cioè, l'RNA dell'HIV, la si può diminuire fino a livelli non individuabili attraverso l'uso, sia dell'RT, che degli inibitori della proteasi. Tuttavia, poiché: (i) viene accettato che l'RNA dell'HIV è una trascrizione del DNA dell'HIV; (ii) per loro natura né l'RT né gli inibitori della proteasi hanno alcun effetto sulla trascrizione del DNA, inibiscono solo l'infezione di nuove cellule, cioè, la diminuzione dell'RNA dell'HIV è una conseguenza della diminuzione nel DNA dell'HIV; ci si aspetterebbe che si potesse determinare l'effetto di questi farmaci attraverso la misurazione del livello del DNA dell'HIV. Tuttavia, non è stato pubblicato quasi nessuno di tali studi. I pochissimi che esistono dimostrano che né l'RT né gli inibitori della proteasi hanno alcun effetto sul DNA dell'HIV, (74-76) il che significa che non esiste una relazione tra l'RNA dell'HIV e il DNA dell'HIV.

4. Nel 1984, Montagnier ed i suoi colleghi riferirono che la 'preincubazione dei linfociti T4+ con tre anticorpi monoclonali diversi, indirizzati alla glicoproteina T4, bloccava l'infezione cellulare da LAV', cioè, bloccava la rilevazione di attività RT nelle cellule T4 'infettate' dall'HIV'. Conclusero che le loro 'risultanze indicano fortemente che la glicoproteina T4 è almeno associata con tutto o parte del ricettore per il LAV'.(38) Tuttavia, il bloccaggio di alcuni dei fenomeni di 'HIV' non specifici, cioè l'attività RT, non può essere ritenuta prova del bloccaggio dell'infezione da 'HIV' o dell'associazione dell'HIV con le cellule T4.

A22. Siamo d'accordo che 'l'analisi delle proteine del virus necessita produzione in serie e purificazione. E' necessario farlo'. Riguardo a ciò, non solo sono falliti parzialmente, ma SONO FALLITI TOTALMENTE. Se 'l'analisi delle proteine del virus necessita di produzione in serie e purificazione', lo stesso necessita l'analisi degli 'acidi nucleici, il clonaggio, ecc.' Se manca la purificazione del virus allora manca:

- (a) la caratterizzazione degli antigeni virali e l'ottenimento di un gold standard per la reazione antigene-anticorpo, cioè, non possono venir adoperati test anticorpali per definire l'infezione da retrovirus;
- (b) per ottenere e caratterizzare gli acidi nucleici retrovirali, cioè, l'RNA (cDNA), con sonde e primer per l'ibridizzazione, e con l'uso della PCR, non possono venir adoperati test molecolari per definire l'infezione retrovirale. Che le cose stiano proprio così viene accettato da Donald Francis, un ricercatore che, con Gallo, svolse un ruolo significativo nello sviluppo della teoria che l'AIDS è causato da un retrovirus. Nel 1983 Francis, allora il principale collaboratore delle Attività di laboratorio dell'AIDS, dei Centri americani per il controllo delle malattie ed ex capo del programma di vaiolo del WHO, speculò riguardo a una causa virale per l'AIDS: 'Dobbiamo fare assegnamento su metodi di identificazione più elaborati attraverso i quali, mediante uno strumento specifico, si possa 'vedere' un virus. Alcune sostanze specifiche, come ad esempio gli anticorpi o gli acidi nucleici, possono identificare virus, anche se le cellule rimangono vive. Qui il problema è che tali metodi possono essere sviluppati solo se conosciamo quello che cerchiamo. Cioè, se cerchiamo un

virus conosciuto possiamo vaccinare una cavia, ad esempio, con *virus puro*... Ma, ovviamente, se non conosciamo quale virus stiamo cercando, e perciò non riusciamo a produrre anticorpi nelle cavie, è difficile impiegare quei metodi. Staremmo a cercare un qualcosa che potrebbe o non potrebbe essere lì mediante tecniche che potrebbero o non potrebbero funzionare'(77) (il corsivo è nostro).

A23. E' impossibile caratterizzare due sconosciuti virali, cioè, le loro proteine e gli anticorpi indirizzati contro di loro, attraverso la formazione di un complesso anticorpo/antigene, meno ancora caratterizzare il 'virus'. Attraverso quali mezzi Montagnier venne a conoscenza che qualcuno aveva anticorpi contro le proteine di un virus e che le proteine con le quali gli anticorpi reagiscono sono virali? E' una impossibilità scientifica che qualcuno abbia anticorpi contro un virus e, allo stesso tempo, che la banda 1,16g/ml contenga proteine dello stesso virus, prima che sia stata provata la sua esistenza.

A24. 1. E' vero che Montagnier aveva gruppi di controllo, ma essi non erano adeguati. Montagnier ed i suoi colleghi fecero reagire le proteine che marcavano una banda a 1,16g/ml coi sieri di due pazienti omosessuali con linfoadenopatia. Si sapeva che i pazienti con l'AIDS, e quelli a rischio, hanno una pletera di anticorpi, tutti con un potenziale di reattività incrociata. Di conseguenza, ci si sarebbe aspettato che Montagnier *et al* avessero impiegato come gruppo di controllo soggetti malati che non avevano l'AIDS o il pre-AIDS e che non erano a rischio di AIDS, ma che avevano una pletera di anticorpi, tutti con un potenziale di reattività incrociata. Invece, i loro soggetti di controllo erano due donatori di sangue il cui stato di salute era caratterizzato da bassi livelli di anticorpi.

2. Montagnier *et al* non ottennero prova di 'una reazione specifica'. I sieri dai pazienti e dai donatori furono fatti reagire sia col 'virus purificato', cioè la banda 1,16g/ml, sia con estratti dalle cellule 'infettate'. Nelle loro strisce pubblicate, con 'virus purificati', non è possibile distinguere alcuna proteina reagente con qualsiasi siero. Nel testo loro affermano: 'Quando fu analizzato il virus purificato e marcato [la banda 1,16g/ml] dal paziente 1...sono state viste tre proteine importanti; la proteina p25 e proteine con peso molecolare di 80.000 e 45.000'. Tali reazioni non sono state riferite quando furono adoperati i sieri dei donatori. Nelle strisce pubblicate con estratti dalle 'cellule infettate', è ovvio che diverse proteine reagirono con i sieri sia dei pazienti sia dei donatori di sangue sani. Un anno dopo Montagnier ed i suoi colleghi confermarono che 'i sieri di alcuni dei pazienti con l'AIDS legarono molte proteine cellulari...Questa marcatura in bande fu evidente nel RIPA e furono considerati positivi solo i sieri che precipitarono specificamente la p25'. In altre parole, per qualche ragione sconosciuta, conclusero che fra tutte le proteine reagenti, solo la p24 (la loro p25) era retrovirale, e fra tutti gli anticorpi, solamente quello che reagì con la p24 fu indirizzato contro il retrovirus. Anche se si considera specifica la reazione tra la p24 che marca una banda a 1,16g/ml e l'anticorpo presente nei sieri, cioè, non dovuta a reattività incrociata, da una reazione del genere è impossibile trarre la conclusione che la p24 è una proteina retrovirale e che l'anticorpo è causato (come conseguenza) dall'infezione di questo retrovirus. Infatti, dato che Montagnier *et al* non riuscirono nemmeno a individuare particelle che sembrano retrovirus a 1,16g/ml, le loro conclusioni riguardo la p24 e l'anticorpo che reagisce con essa è completamente irragionevole a livello scientifico.

A25. 1. Nessun anticorpo, nemmeno gli anticorpi monoclonali, sono 'molto specifici' o addirittura specifici.(78-84) Infatti, ci sono casi dove 'un antigene a reazione incrociata si lega con un'affinità maggiore del medesimo antigene omologo... Il fatto più ovvio riguardo le reazioni incrociate degli anticorpi monoclonali è che sono caratteristici di tutte le molecole e non possono essere eliminati attraverso l'assorbimento senza eliminare tutta la reattività...Anche gli antigeni che differiscono per la maggior parte della loro struttura possono condividere un fattore determinante, e un anticorpo monoclonale che riconosce questo punto darebbe allora una reazione incrociata del 100%. Un esempio è la reazione degli autoanticorpi nel lupus, sia col DNA, sia con la cardiolipina'.(80)

Tuttavia, 'Dovrebbe essere sottolineato il fatto che condividere un 'fattore determinante' non significa che gli antigeni contengono strutture chimiche identiche, ma piuttosto che loro hanno una somiglianza

chimica che potrebbe non essere ben capita, ad esempio, una distribuzione di cariche sulla superficie'.(80) [E' importante notare che gli esperti dell'"HIV" ammettono che la 'reattività incrociata' sia la causa della reattività anticorpale 'indeterminata' riscontrata nel Western blot dell'"HIV", così come, ad esempio, la reattività tra gli anticorpi monoclonali alla proteina p18 dell'"HIV" e le cellule dendritiche nei tessuti linfatici di una varietà di pazienti che hanno un numero di malattie non correlate con l'AIDS (85) ed i tessuti normali, presi dai soggetti 'non infettati dall'"HIV"'.(86)] Affinché ci si convinca che tutti gli 'anticorpi [compresi quelli monoclonali] sono polispecifici, cioè, che sono capaci di reagire con diversi antigeni dissimili, come ad esempio: proteine, acidi nucleici e apteni', 'sono capaci di reagire con più antigeni di quelli propri o non propri, spesso senza alcuna somiglianza antigenica apparente', tutto ciò che dobbiamo fare è leggere le pubblicazioni scientifiche dei ricercatori dell'Istituto Pasteur, come ad esempio *Stratis Avrameas*.(83-87)

2. Non si può concludere che una proteina che marca una banda a 1,16g/ml sia virale solamente perché reagisce con un anticorpo presente nei sieri del paziente, anche se in qualche maniera si sa che gli anticorpi presenti nei sieri sono monoclonali. Ipotizziamo una situazione ideale dove: (a) tutti gli anticorpi presenti nei sieri del paziente sono monoclonali e 'molto specifici'; (b) la banda 1,16g/ml contiene, in aggiunta alle diverse proteine non rappresentate e alle microvescicole, anche proteine rappresentate di origine cellulare e forse di origine batterica, fungina e virale (costituenti dei diversi agenti infettivi, diversi dai retrovirus, presenti nella coltura e nei pazienti) e, come dimostrato in uno studio franco-tedesco del 1997, un numero di particelle che somigliano ai retrovirus. Anche in questa situazione ideale, **NON E' POSSIBILE AFFERMARE** che, solo perché una proteina come ad esempio la p24, la p41, o altre siano riscontrate in questa banda e reagisca con i sieri, la proteina è una componente delle particelle simili ai retrovirus.

3. La realtà è che: (a) tutti i pazienti con l'AIDS e quelli a rischio hanno una pleora di anticorpi compresi gli autoanticorpi. Gli autoanticorpi comprendono gli antilinfociti, e come Montagnier ed i suoi colleghi hanno dimostrato,88 anticorpi antiactina e antimiosina, cioè, anticorpi contro l'actina e la miosina, le due proteine cellulari onnipresenti; (b) tutti gli anticorpi presenti nei sieri hanno il potenziale di reattività incrociata; (c) le proteine del supernatante dei linfociti non infettati, che nelle bande dei gradienti di densità del saccarosio a 1,16g/ml, cioè, il finto virus, comprende proteine che hanno gli stessi pesi molecolari delle proteine dell'"HIV";89 (d) gli animali che sono stati inoculati col finto virus sviluppano anticorpi che reagiscono con le proteine 'SIV', un 'retrovirus' le cui proteine condividono gli stessi pesi molecolari delle proteine dell'"HIV" e si ritiene che sia il parente più vicino all'"HIV";90 (e) i pazienti con l'AIDS e quelli a rischio sono ripetutamente soggetti a stimoli allogenici, compresi i linfociti allogenici; (f) fino al 1997, non esisteva nemmeno l'evidenza che dimostrasse che la banda 1,16g/ml contenesse particelle simili ai retrovirus. Data questa realtà, affermare che solo perché una proteina marchi bande a 1,16g/ml e che reagisca con anticorpi presenti nei sieri del paziente, nella migliore delle ipotesi, non differisce da quanto segue: (i) Un ricercatore ha due ciotole, una delle quali contiene una miscela di uova crude, alcune note e forse alcune sconosciute, e forse un po' di latte derivato da alcuni animali. L'altra contiene alcuni acidi. Un'altra volta, alcuni conosciuti e forse alcuni sconosciuti. Una volta che vengono miscelati i contenuti delle due ciotole, ottiene un precipitato. Afferma che il precipitato prova l'esistenza nella ciotola di latte da un animale previamente sconosciuto e un acido sconosciuto e che la reazione è tra l'acido sconosciuto e una proteina del latte precedentemente sconosciuto. (ii) Questa affermazione è scientificamente impossibile poiché qualsiasi proteina nelle uova avrebbe potuto reagire con qualsiasi acido, per produrre il precipitato osservato.

Di conseguenza, data la realtà come delineata sopra da (a) a (f), è completamente non scientifico affermare che la reazione tra proteine che marcano una banda tra 1,16g/ml e reagiscono con anticorpi presenti nei sieri del paziente è prova dell'esistenza dell'"HIV". Il fatto di affermare che la reazione tra le proteine che marcano bande a 1,16g/ml (in assenza di evidenza che la banda contenga nemmeno particelle simili ai retrovirus) con anticorpi presenti nei sieri indica, non solo che la banda contiene proteine retrovirali, ma che contiene proteine di un nuovo retrovirus, non differisce da quanto segue: Un pescatore, che ha creature marine ma nessun pesce in una rete, butta alcuni animali nella rete. Il pescatore osserva che gli animali mangiano alcune proteine presenti nella rete e afferma che le

proteine non erano solo proteine dei pesci, ma erano proteine di un pesce completamente nuovo, un pesce che nessuno ha visto prima: un pesce d'oro.

A26. 1. Non è possibile, sia per Montagnier sia per Gallo, che abbiano 'ragione ragionevolmente'. Entrambi fecero reagire la banda 1,16g/ml con i sieri dei pazienti. Indipendentemente dal metodo impiegato per individuare la reazione (RIPA p WB) e, dal numero di reazioni eseguite, avrebbero dovuto riscontrare le stesse proteine reagenti.

2. Nel loro studio del 1983, Montagnier ed i suoi colleghi trovarono tre proteine, la p25, la p45 e la p80. Riguardo la p45 scrissero: 'La proteina 45K può essere dovuta alla contaminazione del virus attraverso l'actina cellulare che era presente negli immunoprecipitati di tutti gli estratti cellulari'. In uno studio pubblicato nel 1984, avevano 'una prominente p25, una p18, una proteina a basso peso molecolare in fondo al gel (p12), e tre proteine ad elevato peso molecolare (43.000, 53.000, 68.000). La banda a 43.000 può includere una componente di origine cellulare, poiché fu riscontrata anche in un preparato simile composto dalle cellule non infettate di controllo'.

3. Poiché i sieri, sia dei pazienti sia dei donatori del sangue sani reagirono ripetutamente con la proteina p45/p43 proveniente, sia da cellule infettate, che non infettate, ci si potrebbe aspettare che anche Gallo abbia individuato questa proteina. Tuttavia, né Gallo né nessun altro da quel momento riferì una banda del genere, indipendentemente dal metodo impiegato per individuare la reazione antigene/anticorpo. La discrepanza può essere risolta se uno prende in considerazione il fatto che la migrazione di proteine su una striscia elettroforetica, in aggiunta al peso molecolare, può essere influenzata anche da altri fattori, ad esempio dalla carica che porta la proteina. Perciò, la medesima proteina può sembrare di avere un peso molecolare leggermente differente, qualora venga individuata dal RIPA o dal WB. Ad esempio, al presente, sia la p25 individuata da Montagnier, sia la p24 individuata da Gallo, vengono considerate la stessa proteina p24 dell'"HIV".

4. Il peso molecolare dell'actina non è né 45.000 né 43.000 ma 41.000. Al presente esiste una ampia evidenza che la banda 1,16g/ml, cioè, l'"HIV puro" contiene actina cellulare (91-94) e, come è stato già menzionato, Montagnier stesso dimostrò che i sieri dei pazienti di AIDS e quelli a rischio contengono anticorpi che reagiscono con l'actina. In altre parole, quando la banda di 1,16g/ml è fatta reagire con i sieri dei pazienti, indipendentemente dalla presenza dell'"HIV", una banda p41 (p45/43) deve essere presente, e rappresenta l'actina cellulare. (Se Montagnier adesso crede che la p41 è una proteina dell'"HIV", perché continua ad escludere questa banda dai suoi criteri per un Western blot positivo?(95)

A27. La proteina p24 non è sufficiente per diagnosticare l'infezione da 'HIV', perché non è specifica. In realtà, non è stato riferito che nessun'altra proteina 'HIV', nemmeno la p41 (p45/43), ha reagito più spesso con sieri da soggetti sani (che non sono a rischio di AIDS). Nemmeno è stato riscontrato che un anticorpo monoclonale abbia reagito a qualsiasi delle altre proteine dell'"HIV" più spesso con proteine presenti nelle colture non 'infette' o sieri da soggetti che non sono a rischio di AIDS. Secondo Montagnier perché: (a) 'queste sono proteine cellulari che troviamo ovunque – c'è un rumore di fondo non specifico'; (b) una proteina del genere, che ha un peso molecolare di 45/43, è l'actina; (c) questa proteina reagì con sieri di soggetti che non sono a rischio di AIDS; la p45/43 rappresenta una proteina cellulare ma non virale. Tuttavia, poiché: (i) la miosina è tanto onnipresente quanto l'actina. (ii) la miosina ha una catena leggera con un peso molecolare di 24.000. (iii) le proteine del citoscheletro (delle quali l'actina e la miosina sono le più abbondanti) sono state riscontrate nell'"HIV puro".(91-94) In realtà, la miosina e l'actina vengono ritenute svolgere un ruolo cruciale nella gemmazione e rilascio delle particelle dell'"HIV".(91) (iv) Montagnier ha dimostrato che i pazienti con l'AIDS, e a rischio di AIDS, hanno anticorpi antimiosina. Perché non dovremmo considerare la banda p24 come rappresentativa della miosina?

A28. Siamo d'accordo che nessuna proteina è sufficiente per diagnosticare l'infezione da 'HIV'. Allora il problema, come è oggi, non era 'sapere se era un HTLV o no', ma se era retrovirale o no. Non tutto

quello che non è HTLV è retrovirale.

A29. 1. Fino a oggi, non esiste prova che qualsiasi delle proteine che marcano banda a 1,16g/ml sono proteine dell' "HIV". L'unica ragione per cui il 20% delle proteine che marcano banda a 1,16g/ml sono ritenute 'HIV' è che viene riscontrato che questa frazione di proteine reagisce con i sieri differenti del paziente di AIDS una volta o l'altra.

2. Siamo d'accordo che, con la tecnica impiegata dal gruppo di Montagnier, non si possono provare quali proteine (o acidi nucleici) sono cellulari e quali sono virali.

3. Siamo d'accordo. L'unico modo con cui può essere provata l'esistenza di proteina virale (acidi nucleici) è tramite la 'purificazione del virus al massimo', cioè, mediante l'ottenimento di gradienti di densità che contengono solamente particelle con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus e nient'altro. Ciò non è stato mai fatto per provare l'esistenza delle proteine e acidi nucleici dell' "HIV".

4. Se si 'inciampa sempre sulle stesse proteine' nei gradienti successivi, non è prova che quelle proteine siano virali e che quelle che spariscono siano cellulari.

A30. 1. Non importa quante volte la marcatura di bande venga ripetuta, se si inizia con nessuna particella simile ai retrovirus, si finisce con nessuna particella del genere. Alle volte, tramite marcature di bande successive, si potrebbero eliminare i componenti non retrovirali per ottenere una banda che contiene nient'altro che particelle con caratteristiche morfologiche dei retrovirus. Tuttavia, per riuscire a farlo, anche dopo la prima marcatura di bande, si deve cominciare con una proporzione relativamente elevata di particelle simili ai retrovirus.

2. Un'altra volta, l'origine delle proteine non può essere determinata dall'analisi molecolare, cioè, tramite il sequenziamento delle proteine.

3. Siamo d'accordo che, se le proteine di un retrovirus sono codificate dal suo genoma, come di solito viene accettato, allora potrebbe essere possibile caratterizzare le proteine retrovirali dal loro genoma. Tuttavia, per fare questo, si deve provare prima che l'RNA (cDNA) è una componente di una particella retrovirale. Ciò non è stato fatto per il genoma dell' "HIV". In realtà, anche oggi, non esiste prova che l'RNA dell' "HIV" sia una componente della particella, di qualsiasi particella, sia virale che non virale.

4. Fino a oggi, non c'è prova della relazione tra le sequenze nell'RNA dell' "HIV" (DNA) e le sequenze nelle proteine 'osservate con immunoprecipitazione o con l'elettroforesi a gel'. In realtà, non esiste nemmeno una relazione tra la dimensione delle proteine codificate dai geni dell' "HIV" e la dimensione delle proteine 'osservate con l'immunoprecipitazione o con l'elettroforesi a gel'. Ad esempio, nel 1987, Gallo ed i suoi colleghi eseguirono un' 'analisi col computer' delle 'sequenze aminoacidiche dei complessi proteici dell'involucro derivati dalle sequenze di acido nucleico di sette isolati del virus dell'AIDS', e conclusero che 'dal calcolo, la gp41 dovrebbe essere da 52 a 54 dalton'.(96)

5. Uno dei tanti aspetti stupefacenti dell' "HIV" è quanto segue: (a) Gli esperti dell' "HIV" sono d'accordo che nemmeno due 'HIV' hanno le stesse sequenze genomiche e la differenza potrebbe raggiungere fino il 40%;(67) (b) Loro ammettono inoltre che la stragrande maggioranza (99,9%) dei genomi dell' "HIV" è difettosa, cioè, manca o parte di un gene(geni) o il gene (geni) completo. Allora come è possibile: (i) misurare la carica virale ('il DNA dell' "HIV") e la carica virale ('l'RNA dell' "HIV") attraverso l'uso delle medesime sonde di ibridizzazione e primer della PCR? (ii) eseguire test anticorpali mediante l'impiego di kit che contengono gli stessi antigeni per tutti i diversi 'HIV'?

6. In realtà, la storia di come i ricercatori dell' "HIV" hanno tentato di provare l'esistenza della p120 e come loro convenirono eventualmente sulla sua esistenza è molto interessante e informativo.<sup>32</sup> Comunque, dato il fatto che la proteina p120 viene ritenuta di essere presente solo nelle protuberanze,

non è stata riferita finora nessuna particella dell' "HIV" priva di cellule che ha protuberanze. Di conseguenza, né le particelle nel supernatante della coltura, né il virus 'puro' avranno la gp120. In altre parole, è impossibile, sia per le strisce RIPA, sia per quelle WB avere la proteina dell' "HIV" con un peso molecolare di 120.000.

A31. Non si trova una prova del genere nella bibliografia pubblicata.

A32. 1. Prima del marzo del 1997 nessun gruppo di ricercatori dell' "HIV" non aveva pubblicato nemmeno una singola microfotografia elettronica del materiale che marca alla densità di 1,16gm/ml in un gradiente di densità del saccarosio. La prima EM del materiale marcato a bande nei gradienti di densità del saccarosio comparve nel 1997 su due pubblicazioni, una franco-tedesca e l'altra proveniente dall'Istituto nazionale del cancro americano (NCI).(89) L'EM franco-tedesca è proveniente dal gradiente di densità del saccarosio di 1,16gm/ml, mentre non è possibile dire da quale densità derivino le risultanze dell'NCI. Le conclusioni di entrambi gli studi svelano che la stragrande maggioranza del materiale è 'non virale', virus 'finto', 'microvescicole' cellulari, cioè, il materiale marcato a bande è tutto virtualmente cellulare. Queste particelle, alla pari delle particelle retrovirali, contengono acidi nucleici in aggiunta a proteine che però non sono tanto condensate.

2. Le microfotografie EM in entrambi gli studi contengono anche una piccola quantità di particelle che hanno la morfologia che assomiglia più da vicino alle particelle retrovirali rispetto alle particelle 'finte'. Entrambi i gruppi affermano che le particelle di minor numero sono l' "HIV".

3. Nello studio dell'NCI non vengono date ragioni dell'affermazione che quelle particelle sono 'HIV'. Gli autori dello studio franco-tedesco affermano che le particelle sono 'HIV' perché hanno: (a) 'diametri di circa 110nm'; (b) un 'core denso a forma di cono'; (c) 'corpi laterali'; e perché nessuna particella del genere è stata vista nel materiale marcato a bande, proveniente dalle cellule di controllo non 'infettate'. Tuttavia, secondo ricercatori retrovirali ben noti, come ad esempio Bader e Frank, un tipo di 'particella oncovirale' può trasformarsi in un'altra, e cori immaturi possono trasformarsi in 'maturi', soltanto tramite il cambiamento delle condizioni extracellulari.(11-97) Tuttavia, le condizioni di coltura nelle cellule 'infettate' e non infettate non erano le stesse. Tutti i retrovirus condividono due caratteristiche morfologiche: un diametro di 100-120nm e protuberanze di superficie. Nessuna di queste particelle sembra avere protuberanze e nessuna ha un diametro di meno di 120nm. Il fatto di fare una media dei diametri maggiori e minori delle particelle indicate, dire che rappresentano l' "HIV" e ipotizzare che tutte le particelle sono sferiche, dimostra che nello studio franco-tedesco le particelle sono 1,14 volte più grandi delle particelle retrovirali autentiche, e le particelle dell'NCI sono 1,96 volte più grandi. Queste risultanze si traducono in volumi che sono rispettivamente del 50% e del 750% più grandi. Poiché la densità è il rapporto della massa col volume, queste particelle devono avere in modo proporzionale masse più elevate. Dato il diametro massimo delle particelle retrovirali ed il fatto che siffatte particelle contengono una massa fissa di RNA e proteina, sembra insostenibile che le particelle che entrambi i gruppi considerano l' "HIV" siano la stessa particella o siano particelle retrovirali. L'unica altra spiegazione per queste risultanze è che le microfotografie elettroniche non siano della banda 1,16gm/ml o che la marcatura della banda non fosse in equilibrio, nel qual caso si deve ridefinire la esuberante densità dei retrovirus.

Si ritiene che le particelle dell' "HIV" abbiano un core virale a forma di cono, con corpi laterali densi in ciascun lato del core. Nessuna caratteristica del genere può essere vista nelle EM pubblicate su questi due studi. Perciò, per definizione, non si può ritenere che le particelle siano simili a un retrovirus.

Prendendo in considerazione che in entrambi gli studi le colture di controllo 'non infette' erano le cellule H9 ed il fatto che Gallo, nel lontano 1983, affermò che queste cellule erano infettate dall'HTLV-I, è un enigma che non siano state riscontrate le particelle simili ai virus nel materiale marcato a bande proveniente da queste colture.

A33. Le fotografie dell'1,16g/ml sono di interesse significativo e profondo. Come si potrebbe altrimenti sapere che ci sono lì particelle simili ai retrovirus, specialmente perché anche Montagnier ammette che altre cose potrebbero marcare lì bande. Per qualsiasi scienziato che afferma la prova di isolamento, purificazione di un retrovirus, adoperando le marcature di banda di gradiente di densità del saccarosio, è vitale e assolutamente necessario ottenere microfotografie elettroniche della banda 1,16g/ml che mostri nient'altro che particelle simili ai retrovirus.

A34. Se le cose stessero così, perché non sono disponibili nella bibliografia scientifica tali risultanze?

A35. In uno dei loro articoli del 1984 (22) Montagnier ed i suoi colleghi scrissero: 'Diverse caratteristiche indicano che i virus LAV o i virus correlati al LAV appartengono alla famiglia dei retrovirus. Sono state osservate particelle in gemmazione nella membrana plasmatica con la microscopia elettronica. La densità del virus nel gradiente di saccarosio è di 1,16 ed è stato riscontrato che l'attività di transcriptasi inversa, dipendente dal Mg<sup>2+</sup>, sia associata a dei virioni che contengono RNA'. Tuttavia, in questa intervista Montagnier ammette: (a) 'Pubblichiamo immagini di gemmazione che sono caratteristiche dei retrovirus. Avendo detto ciò, basandosi solo sulla morfologia, non si potrebbe dire che era veramente un retrovirus... Con le prime fotografie della gemmazione avrebbe potuto trattarsi di un virus di tipo C. Non si può distinguere... No...beh, dopo tutto, sì...potrebbe trattarsi di un altro virus in gemmazione'. (b) alla densità del saccarosio di 1,16g/ml. Montagnier ed i suoi colleghi, non solo non videro una particella da retrovirus, ma dissero ripetutamente che non videro particelle simili ai retrovirus; (c) anche se alla densità del saccarosio di 1,16g/ml loro individuarono transcriptasi inversa del primer templatato An.dT12-18 in presenza di Mg<sup>2+</sup>, non avevano particelle, perciò non avevano evidenza che l'attività di transcriptasi inversa riscontrata fosse associata con i virioni che contengono RNA'.

Inoltre, in questo studio (22), dimostrarono che le polimerasi a DNA beta e gamma e quella delle cellule non infettate trascrivono An.dT (12-18) in presenza del Mg<sup>2+</sup>. Perciò, le condizioni e le risultanze di Montagnier non provano la sua affermazione che quanto lui ha 'visto' e 'incontrato' sia un retrovirus. Se l'"HIV" 'esiste' ed è 'chiaro' per Montagnier che lui 'lo ha visto' e 'lo ha incontrato', dov'è la prova? \*

*Eleni Papadopulos-Eleopulos (1) Valendar F. Turner (2) John M. Papadimitriou (3)  
Barry Page (1) & David Causer (1)*

(1) Dipartimento di Fisica Medica, (2) Dipartimento di Medicina di Emergenza, Ospedale Royal Perth, Perth, Australia Occidentale; (3) Dipartimento di Patologia, Università di Australia Occidentale.

## References:

1. Rous P. A Sarcoma of the Fowl transmissible by an agent separable from the Tumor Cells. *J. Exp. Med.* 1911;13:397-411.
2. Boycott AE. The transition from life to death; the nature of filterable viruses. *Proc. Royal Soc. Med.* 1928;22:55-69.
3. Darlington C. The plasmagene theory of the origin of cancer. *Br. J. Cancer* 1948;2:118-126.
4. Papadopulos-Eleopulos E. A Mitotic Theory. *J. Theor. Biol.* 1982;96:741-758.
5. Papadopulos-Eleopulos E. Reappraisal of AIDS: Is the oxidation caused by the risk factors the primary cause? *Med. Hypotheses* 1988;25:151-162.
6. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papadimitriou JM. Oxidative Stress, HIV and AIDS. *Res. Immunol.* 1992;143:145-148.
7. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papadimitriou JM. Is a Positive Western Blot Proof of HIV Infection? *Bio/Technology* 1993;11:696-707.
8. Beard JW, Sharp DG. Virus of avian erythromyeloblastic leukemia. *Biochimica et Biophysica Acta* 1954;14:12-17.
9. Gelderblom HR, Özel M, Hausmann EHS, Winkel T, et al. Fine Structure of Human Immunodeficiency Virus (HIV), Immunolocalization of Structural Proteins and Virus-Cell Relation. *Micron Microscopica* 1988;19:41-60.
10. Beard JW. Physical methods for the analysis of cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1957;69:530-544.
11. Bader JP. Reproduction of RNA Tumor Viruses. In: Fraenkel-Conrat H, Wagne RR, ed. *Comprehensive Virology*. New York: Plenum Press, 1975: 253-331. vol 4).
12. Toplin I. Tumor Virus Purification using Zonal Rotors. *Spectra* 1973: 225-235.
13. Temin HM, Baltimore D. RNA-Directed DNA Synthesis and RNA Tumor Viruses. *Adv. Virol. Res.* 1972;17:129-186.
14. Sinoussi F, Mendiola L, Chermann JC. Purification and partial differentiation of the particles of murine sarcoma virus (MSV) according to their sedimentation rates in sucrose density gradients. *Spectra* 1973;4:237-243.
15. Toyoshima K, Vogt PK. Enhancement and Inhibition of Avian Sarcoma Viruses by Polycations and Polyanions. *Virology* 1969;38:414-426.

16. Aaronson SA, Todaro GJ, Scholnick EM. Induction of murine C-type viruses from clonal lines of virus-free BALB/3T3 cells. *Science* 1971;174:157-159.
17. Hirsch MS, Phillips SM, Solnik C. Activation of Leukemia Viruses by Graft-Versus-Host and Mixed Lymphocyte Reactions In Vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1972;69:1069-1072.
18. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F. Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-871.
19. Lee MH, Sano K, Morales FE, Imagawa DT. Sensitive reverse transcriptase assay to detect and quantitate human immunodeficiency virus. *J. Clin. Microbiol.* 1987;25:1717-21.
20. Brun-Vezinet F, Rouzioux C, Barre-Sinoussi F, Klatzmann D, et al. Detection of IgG antibodies to lymphadenopathy-associated virus in patients with AIDS or lymphadenopathy syndrome. *Lancet* 1984;i:1253-6.
21. Vilmer E, Rouzioux C, Vezinet Brun F, Fischer A, et al. Isolation of new lymphotropic retrovirus from two siblings with Haemophilia B, one with AIDS. *Lancet* 1984;i:753-757.
22. Rey MA, Spire B, Dormont D, Barre-Sinoussi F, et al. Characterization of the RNA dependent DNA polymerase of a new human T-lymphotropic retrovirus (lymphadenopathy associated virus). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984;121:126-33.
23. Gallo RC, Wong-Staal F, Reitz M, Gallagher RE, et al. Some evidence for infectious type-C virus in humans. In: Baltimore D, Huang AS, Fox CF, eds. *Animal Virology*. New York: Academic Press Inc., 1976: 385-405.
24. Varmus H. Reverse Transcription. *Sci. Am.* 1987;257:48-54.
25. Varmus H. Retroviruses. *Science* 1988;240:1427-1435.
26. Gallo RC, Sarin PS, Wu AM. On the nature of the Nucleic Acids and RNA Dependent DNA Polymerase from RNA Tumor Viruses and Human Cells. In: Silvestri LG, ed. *Possible Episomes in Eukaryotes*. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1973: 13-34.
27. Tomley FM, Armstrong SJ, Mahy BWJ, Owen LN. Reverse transcriptase activity and particles of retroviral density in cultured canine lymphosarcoma supernatants. *Br. J. Cancer* 1983;47:277-284.
28. Temin HM. On the origin of RNA tumor viruses. *Harvey Lect.* 1974;69:173-197.
29. Gallagher RE, Gallo RC. Type C RNA Tumor Virus Isolated from Cultured Human Acute Myelogenous Leukemia Cells. *Science* 1975;187:350-353.
30. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou JM, Causer D. A critical analysis of the evidence for the isolation of HIV. At Website <http://www.virusmyth.com/aids/data/epappraisal.htm> 1997.
31. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou JM, Causer D. HIV antibodies: Further questions and a plea for clarification. *Curr. Med. Res. Opin.* 1997;13:627-634.
32. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou JM, Causer D. The Isolation of HIV: Has it really been achieved? *Continuum* 1996;4:1s-24s.
33. Lower R, Lower J, Kurth R. The viruses in all of us: Characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1996;93:5177-5184.
34. Marx JL. Human T-cell virus linked to AIDS. *Science* 1983;220:806-809.
35. Gougeon ML, Laurent-Crawford AG, Hovanessian AG, Montagnier L. Direct and indirect mechanisms mediating apoptosis during HIV infection: contribution to in vivo CD4 T cell depletion. *Immunol.* 1993;5:187-194.
36. Cohen J. Exploiting the HIV-chemokine nexus. *Science* 1997;276(5315):1261-1264.
37. Layne SP, Merges MJ, Dembo M, Spouge JL, et al. Factors underlying spontaneous inactivation and susceptibility to neutralization of human immunodeficiency virus. *Virology* 1992;189:695-714.
38. Klatzmann D, Barré-Sinoussi F, Nugeyre MT. Selective Tropism of Lymphadenopathy Associated Virus (LAV) for Helper-Inducer T Lymphocytes. *Science* 1984;225:59-63.
39. Klatzmann D, Montagnier L. Approaches to AIDS therapy. *Nature* 1986;319:10-11.
40. Acres RB, Conlon PJ, Mochizuki DY, Gallis B. Rapid Phosphorylation and Modulation of the T4 Antigen on Cloned Helper T Cells Induced by Phorbol Myristate Acetate or Antigen. *J. Biol. Chem.* 1986;261:16210-16214.
41. Zagury D, Bernard J, Leonard R, Cheynier R, et al. Long-Term Cultures of HTLV-III-Infected T Cells: A Model of Cytopathology of T-Cell Depletion in AIDS. *Science* 1986;231:850-853.
42. Scharff O, Foder B, Thastrup O, Hofmann B, et al. Effect of thapsigargin on cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> and proliferation of human lymphocytes in relation to AIDS. *Biochim. Biophysica. Acta.* 1988;972:257-264.
43. Birch RE, Rosenthal AK, Polmar SH. Pharmacological modification of immunoregulatory T lymphocytes. II. Modulation of T lymphocyte cell surface characteristics. *Clin. Exp. Immunol.* 1982;48:231-238.
44. Zagury D, Bernard J, Leonard R, Cheynier R, et al. Long-Term Cultures of HTLV-III-Infected T Cells: A Model of Cytopathology of T-Cell Depletion in AIDS. *Science* 1986;231(21st February):850-853.
45. Laurent-Crawford AG, Krust B, Muller S, Rivière Y, et al. The Cytopathic Effect of HIV is Associated with Apoptosis. *Virology* 1991;185:829-839.
46. Dourmashkin RR, O'Toole CM, Bucher D, Oxford JS. The presence of budding virus-like particles in human lymphoid cells used for HIV cultivation. VIIth International Conference on AIDS. Florence: 1991:122.
47. O'Hara CJ, Groopmen JE, Federman M. The Ultrastructural and Immunohistochemical Demonstration of Viral Particles in Lymph Nodes from Human Immunodeficiency Virus-Related Lymphadenopathy Syndromes. *Human Pathology* 1988;19:545-549.
48. Gallo RC, Sarin PS, Kramarsky B, Salahuddin Z, et al. First isolation of HTLV-III. *Nature* 1986;321:119.
49. Duesberg PH. Peter Duesberg responds. *Continuum* 1996;4:8-9.
50. Nermut MV, Steven AC, ed. *Retroviridae. Animal Virus and Structure*. Oxford: Elsevier, 1987
51. Gallo RC, Fauci AS. The human retroviruses. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, ed. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 13 ed. New York: McGraw-Hill Inc., 1994: 808-814.
52. Todaro GJ, Benveniste RE, Sherr CJ. Interspecies Transfer of RNA Tumour Virus Genes: Implications for the search for "Human" Type C Viruses. In: Baltimore D, Huang AS, Fox CS, ed. *Animal Virology*. New York: Academic Press Inc., 1976: 369-384.

53. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou JM, Casner D, et al. A critical analysis of the HIV-T4-cell-AIDS hypothesis. *Genetica* 1995;95:5-24.
54. Montagnier L. Lymphadenopathy-Associated Virus: From Molecular Biology to Pathogenicity. *Ann. Int. Med.* 1985;103:689-693.
55. Duesberg PD. *Inventing the AIDS Virus.* Washington, USA: Regnery Publishing, Inc., 1996.
56. Padian NS, Shiboski SC, Jewell NP. Female-to-male transmission of human immunodeficiency virus. *JAMA* 1991;266:1664-7.
57. Brettler DB, Forsberg AD, Levine PH, Andrews CA, et al. Human immunodeficiency virus isolation studies and antibody testing. Household contacts and sexual partners of persons with hemophilia. *Arch. Int. Med.* 1988;148:1299-301.
58. van der Ende ME, Rothbarth P, Stibbe J. Heterosexual transmission of HIV by haemophiliacs. *Brit. Med. J.* 1988;297:1102-3.
59. Padian NS, Shiboski SC, Glass SO, Vittinghoff E. Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus (HIV) in northern California: results from a ten-year study. *Am. J. Epidemiol.* 1997;146:350-7.
60. Burger H, Weiser B, Robinson WS, Lifson J, et al. Transient antibody to lymphadenopathy-associated virus/human T-lymphotropic virus type III and T-lymphocyte abnormalities in the wife of a man who developed the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. Int. Med.* 1985;103:545-7.
61. Hockley DJ, Wood RD, Jacobs JP. Electron Microscopy of Human Immunodeficiency Virus. *J. Gen. Virol.* 1988;69:2455-2469.
62. Lecatsas G, Taylor MB. Pleomorphism in HTLV-III, the AIDS virus. *S. Afr. Med. J.* 1986;69:793-794.
63. Palmer E, Sporborg C, Harrison A, Martin ML, et al. Morphology and immunoelectron microscopy of AIDS virus. *Arch. Virol.* 1985;85:189-196.
64. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou JM. *Virus Challenge.* Continuum 1996;4:24-27.
65. Vartian JP, Meyerhans A, Henry M, Wain-Hobson W. High-resolution structure of an HIV-1 quasispecies: Identification of novel coding sequences. *AIDS* 1992;6:1095-1098.
66. Wain-Hobson S. Virological mayhem. *Nature* 1995;373:102.
67. Kozal MJ, Shah N, Shen N, Yang R, et al. Extensive polymorphisms observed in HIV-1 clade B protease gene using high-density oligonucleotide arrays. *Nat. Med.* 1996;2:753-759.
68. Wain-Hobson S, Sonigo P, Danos O, Cole S, et al. Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. *Cell* 1985;40:9-17.
69. Lazo PA, Tschlis PN. Biology and pathogenesis of retroviruses. *Semin. Oncol.* 1990;17:269-294.
70. Cunningham AL, Dwyer DE, Mills J, Montagnier L. Structure and function of HIV. *Med. J. Aust.* 1996;164:161-173.
71. Barré-Sinoussi F. HIV as the cause of AIDS. *Lancet* 1996;348:31-35.
72. Lauritsen JL. NIDA meeting calls for research into the poppers-Kaposi's sarcoma connection. In: Duesberg PH, ed. *AIDS: Virus- or Drug Induced.* London: Kluwer Academic Publishers, 1995: 325-330.
73. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-126.
74. Holodniy M, Mole L, Winters M, Merigan TC. Diurnal and short-term stability of HIV virus load as measured by gene amplification. *J. Acquir. Immun. Defic. Syndr.* 1994;7: 363-8.
75. O'Brien W, Hartigan PM, Martin D, Esinhart J, et al. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *NEJM* 1996;334: 426-31.
76. Schapiro JM, Winters MA, Stewart F, Efron B, et al. The effect of high-dose saquinavir on viral load and CD4+ T-cell counts in HIV-infected patients. *Ann. Int. Med.* 1996;124:1039-50.
77. Francis DP. The search for the cause. In: Cahill KM, ed. *The AIDS epidemic.* 1st ed. Melbourne: Hutchinson Publishing Group, 1983: 137-150.
78. Guilbert B, Fellous M, Avrameas S. HLA-DR-specific monoclonal antibodies cross-react with several self and nonself non-MHC molecules. *Immunogenetics* 1986;24:118-121.
79. Gonzalez-Quintial R, Baccala R, Alzari PM, Nahmias C, et al. Poly(Glu60Ala30Tyr10) (GAT)-induced IgG monoclonal antibodies cross-react with various self and non-self antigens through the complementarity determining regions. Comparison with IgM monoclonal polyreactive natural antibodies. *Euro. J. Immunol.* 1990;20:2383-2387.
80. Berzofsky JA, Berkower IJ, Epstein SL. Antigen-Antibody Interactions and Monoclonal Antibodies. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology.* 3rd ed. New York: Raven, 1993: 421-465.
81. Fauci AS, Lane HC. Human Immunodeficiency Virus (HIV) Disease: AIDS and Related Disorders. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, ed. *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 13th ed. New York: McGraw-Hill Inc., 1994: 1566-1618.
82. Owen M, Steward M. Antigen recognition. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, ed. *Immunology.* 4th ed. London: Mosby, 1996: 7.1-7.12.
83. Ternynck T, Avrameas S. Murine natural monoclonal antibodies: a study of their polyspecificities and their affinities. *Immunological Reviews* 1986;94:99-112.
84. Pontes de Carvalho LC. The faithfulness of the immunoglobulin molecule: can monoclonal antibodies ever be monospecific. *Immunol. Today* 1986;7:33.
85. Chassagne J, Verelle P, Fonck Y, Legros M, et al. Detection of lymphadenopathy-associated virus p18 in cells of patients with lymphoid diseases using a monoclonal antibody. *Ann. Institut. Past./Immunol.* 1986;137D:403-408.
86. Parravicini CL, Klatzmann D, Jaffray P, Costanzi G, et al. Monoclonal antibodies to the human immunodeficiency virus p18 protein cross-react with normal human tissues. *AIDS* 1988;2:171-177.
87. Guilbert B, Mahana W, Gilbert M, Mazie JC, et al. Presence of natural autoantibodies in hyperimmunized mice. *Immunol.* 1985;56:401-8.
88. Matsiota P, Chamaret S, Montagnier L. Detection of Natural Autoantibodies in the serum of Anti-HIV Positive-Individuals. *Ann. Institut. Past./Immunol.* 1987;138:223-233.
89. Bess JW, Gorelick RJ, Bosche WJ, Henderson LE, et al. Microvesicles are a source of contaminating cellular proteins found in purified HIV-1 preparations. *Virol.* 1997;230:134-144.

90. Arthur LO, Bess JW, Jr., Urban RG, Strominger JL, et al. Macaques immunized with HLA-DR are protected from challenge with simian immunodeficiency virus. *J. Virol.* 1995;69:3117-24.
91. Sasaki H, Nakamura M, Ohno T, Matsuda Y, et al. Myosin-actin interaction plays an important role in human immunodeficiency virus type 1 release from target cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1995;92:2026-2030.
92. Pearce-Pratt R, Malamud D, Phillips DM. Role of cytoskeleton in cell-to-cell transmission of human immunodeficiency virus. *J. Virol.* 1994;68:2898-2905.
93. Choudhury S, El-Farrash MA, Kuroda MJ, Harada S. Retention of HIV-1 inside infected MOLT-4 cells in association with adhesion-induced cytoskeleton reorganisation. *AIDS* 1996;10:363-368.
94. Arthur LO, Bess JW, Sowder II RC, Benevise RE, et al. Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses: implications for pathogenesis and vaccines. *Science* 1992;258:1935-1938.
95. Chamaret S, Squinazi F, Courtois Y, Montagnier L. Presence of anti-HIV antibodies in used syringes left out in public places, beaches or collected through exchange programs. *XIth International Conference on AIDS. Vancouver:1996.*
96. Modrow S, Hahn B, Shaw GM, Gallo RC, et al. Computer-assisted analysis of envelope protein sequences of seven human immunodeficiency virus isolates: prediction of antigenic epitopes in conserved and variable regions. *J. Virol.* 1987;61:570-578.
97. Frank H. *Oncovirinae: Type C Oncoviruses.* In: Nermut MV, Steven AC, ed. *Animal Virus and Structure.* Oxford: Elsevier, 1987: 273-287.