

14. R. NEGRI, A. D'AMORE, L. RAVAIOLI. — Infezione da virus di Newcastle.

**Riassunto.** — Dopo una breve sintesi sui dati bibliografici riguardanti la malattia di Newcastle, gli AA. descrivono l'isolamento e la identificazione di un ceppo di virus di Newcastle da un focolaio umano.

L'isolamento del virus è avvenuto dal sangue, prelevato in periodo febbrile, di un malato affetto da forma simil-influenzale e non dal liquido di lavaggio oro-faringeo od oculare.

Gli AA. richiamano l'attenzione sulle possibilità dell'isolamento del virus dal sangue, e sul fatto che anche in Italia esistono casi di infezione da virus di pseudo-peste aviare nell'uomo.

**Résumé.** — Après une brève revue des données bibliographiques concernant la maladie de Newcastle chez l'homme, les auteurs décrivent l'isolement et l'identification d'une souche de virus de Newcastle séparée d'un foyer humain.

C'est du sang prélevé pendant une période de fièvre que le virus a été isolé, chez un sujet malade d'une forme semblable à l'influenza et non pas du liquide de lavage de la bouche, du pharynx ou de l'oeil.

Cette étude appelle l'attention sur la possibilité d'isoler le virus du sang et sur le fait que même en Italie il existe des cas d'infection dus au virus de pseudo-peste chez l'homme.

**Summary.** — After a brief summary of bibliographical data concerning Newcastle disease in man, the Authors describe the isolation and identification of a strain of Newcastle virus in an infected human being.

The isolation of the virus was made from the blood taken during the period of fever, from a patient suffering from an influenza-like form, and not from liquid derived from pharyngonasal or eye wash.

This work draws attention to the possibility of isolating the virus from the blood and to the fact that in Italy too there are cases of infection of man by virus of pseudo-fowl pest.

**Zusammenfassung.** Nach einer kurzen Zusammenfassung der in der Fachliteratur enthaltenen Angaben über die Newcastle'sche Krankheit beschreiben die Autoren die Absonderung und Feststellung einer Newcastle'schen Virusgruppe in einem menschlichen Krankheits-herd.

Die Absonderung des Virus wurde im Blut eines Kranken im Fieberstadium vorgenommen, der an einer grippeartigen Erscheinung litt, und stammte nicht aus der Flüssigkeit, die zu einer Mund-Speiseröhren- oder Augenspülung benutzt wurde.

Die Arbeit lenkt die Aufmerksamkeit auf die Absonderungsmöglichkeit des Virus im Blutbild und auf die Tatsache, dass auch in Italien Infektionsfälle, die durch diesen Virus eine pestartige Krankheit im Menschen hervorrufen.

La pseudo- peste aviare o Newcastle disease, come viene chiamata dagli angloamericani, non viene ancora universalmente inclusa tra le zoonosi come lo è per molte altre entità nosologiche.

Essa infatti non è riportata come tale nè nella maggior parte dei trattati <sup>(1)</sup> nè in recenti note sintetiche aggiornative <sup>(2)</sup>. Solo il recentissimo trattato di « Malattie infettive » del CARLINFANTI e MAGRASSI ne parla abbastanza diffusamente <sup>(3)</sup>.

Tuttavia già da vari anni sono stati descritti casi di tale infezione nell'uomo.

BURNET <sup>(4)</sup>, ANDERSON S. G. <sup>(5)</sup>, SHIMKIN N. I. <sup>(6)</sup>, JACOTOT H., VALLÉE A., LE PRIOL A. <sup>(7)</sup>, YELDON J. <sup>(8)</sup>, LEPINE P., ANATASIU P., G. GAREAU <sup>(9)</sup>, SHEELAN G. A. <sup>(10)</sup>, INGALLS W. L., MAHONEY <sup>(11)</sup>, REDNOT M. <sup>(12)</sup>, FREYMAN M. W., BANG F. B. <sup>(13)</sup>, GARCIA MIRANDA P. <sup>(14)</sup>, KEENEY A. H. HUNTER M. C. <sup>(15)</sup>, descrivono tutti i casi di oculo-congiuntivite umana dovuta a virus di Newcastle.

La congiuntivite, spesso unilaterale, ha la durata di pochi giorni e scompare di solito, senza lasciare reliquati.

Dai casi descritti da BURNET, ANDERSON, FREYMAN e BANG, INGALLS e MALONEY, JACOTOT, VALLÉE e LE PRIOL, LEPINE, ANATASIU e GAREAU, il virus di Newcastle è stato isolato dal materiale congiuntivale.

- 
- (1) HULL: Diseases transmitted from animals to man. Terza ediz. 1947.  
— MARCONE G.: Pat. Spec. Med. Vet. Seconda ediz. 1947.  
— HUTYRA F., MAREK J., MANNINGER P.: Pat. Spec. e Ter. Anim. Dom. Terza ediz. It., Ottava ediz. Tedesca, Vol. I, 1949.  
— CURASSON A.: Maladies infect. des anim. dom., tome I, 1946.  
— LEVADITI, LEPINE e VERGE: Les ultravirus des maladies anim., 1943.
- (2) BARBONI E. e MENESINI G.: Croce azzurra, 1, 4, 1950.
- (3) CARLINFANTI E., MAGRASSI F.: Trattato di malattie infettive, 1951.
- (4) BURNET F. M.: Med. J. Austral., 1943, 2, 313-314.
- (5) ANDERSON S. G.: Med. J. Austral., 1946, 3-7-1.
- (6) SHIMKIN N. I.: Brit. J. Ophthalmology, 1946, 35/5, 260/264.
- (7) JACOTOT H., VALLÉE A., LE PRIOL A.: Acad. National Med., 1950, 134, 106.
- (8) YELDON J.: J. Am. Med. Ass. 1946, 132, 169.
- (9) LEPINE P., ANATASIU P., GAREAU G.: Ann. Inst. Past., 1950, 193.
- (10) SHEELAN G. A.: J. Am. Vet. As., 1950.
- (11) INGALLS W. L., MAHONEY A.: Am. J. Publ. Health, 1948, 38, 1263.
- (12) REDNOT M.: Ophthalmologica, 113; 106-107; 1947.
- (13) FREYMAN M. W., BANG F. B.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 84; 409 - 413; 1949.
- (14) GARCIA MIRANDA P.: Arch. Soc. Ophthal. Hispano - Am. 9; 720 - 725; 1949.
- (15) KEENEY A. H. e HUNTER M. C.: Arch. of Ophth., 44, 571, 1950.

Nei casi riportati da BURNET (citato da MATTHEW, KEENEY e SIEGEL <sup>(16)</sup>), da FREYMAN e BANG, da JACOTOT, ecc. da INGALLS, da LEPINE, ecc. da KEENEY e HUNTER si ebbe pure una conferma sierologica della infezione con presenza nel siero dei pazienti di anticorpi inibenti l'emoagglutinazione a titoli significativi.

Sulla possibilità di svelare una infezione da virus di Newcastle nell'uomo per mezzo dell'emoagglutinazione inibizione, sono state eseguite ricerche da BAWELL M. B. e LE GIER M. <sup>(17)</sup> da Mc GOUGH T. F. citato da Ingalls e soprattutto da W. A. COLLIER <sup>(18)</sup>.

Quest'ultimo A., in esperienze eseguite a Giava, in collaborazione con POLAK e VARHAERT, aveva dimostrato come i sieri normali di scimmia non inibissero mai la emoagglutinazione a titolo 1 : 50. Lo stesso dicasi per le scimmie infettate con linfogranuloma inguinale ed encefalite umana. Estendendo le prove di emoagglutinazione inibizione su 1182 sieri umani COLLIER ottiene questi risultati:

a diluizioni di 1:10	595 sieri	(50,3%) non davano inibizione
» » 1:10	292 »	(24,7%) inibivano la emoagglutinazione
» » 1:20	184 »	(15,6%) » » »
» » 1:40	68 »	( 5,8%) » » »
» » 1:80	43 »	( 3,6%) » » »

In conclusione quindi solo il 50% dei sieri esaminati non ha dato inibizione mentre il 9,4% ha dato netta inibizione a diluizioni tra 1:40 e 1:80.

In base a questi risultati non è quindi logico il considerare probativa una inibizione dell'emoagglutinazione fino a titolo di 1:100 per infezioni da poco superate, visto che il siero normale umano può determinare inibizione fino a diluizione di 1:80.

Secondo altri AA. il virus di Newcastle può dare origine nell'uomo non soltanto ad oculo-congiuntiviti granulari, ma anche ad adenite preauricolare, cefalea e febbre <sup>(16)</sup>.

BEATRICE KAWIT, LINDSAY K. B., KISSLING R. E. <sup>(19)</sup> ritengono che nell'adulto possa determinare uno stato simil influenzale, e nel bam-

(16) MATTHEW C., KEENEY A. H., SIEGEL M. M.: The Journ. of Infect. diseases, 88, 1, 272, 1951.

(17) BAWELL M. B., LE GIER M., ecc.: The Jour. of laboratory and Chemical Medicine. St. Louis 34-11-1581/1582; 1949.

(18) COLLIER W. A.: Berl. u. Munch. tierarztl. Wehschr. 9, 1951.

(19) KAWIT B., LINDSAY K. B., KISSLING R. E.: Amer. Jour. Publ. Healths 38-1263-1272; 1948.

bino possa dare delle infezioni atipiche localizzate nel sistema nervoso centrale.

In base a quello che è stato sopra brevemente riportato non crediamo vi siano dubbi sulla possibilità che il virus di Newcastle possa in determinate circostanze assumere il ruolo di agente patogeno per l'uomo.

In Italia, CARLINFRANTI (20) nel 1947 aveva notato come la emoagglutinazione del virus influenzale e del virus di Newcastle avvenisse per mezzo dello stesso ricettore eritrocitico. In base a questa e ad altre constatazioni l'A. aveva emessa l'ipotesi che il virus di Newcastle fosse derivato per mutazione dal virus influenzale umano.

Dato che fino ad oggi non ci risulta che in Italia siano stati visti e descritti casi di infezioni umane da virus di Newcastle ci è sembrato non privo di interesse l'espore un caso caduto sotto la nostra osservazione.

#### PARTE CLINICA.

Uno di noi — ebbe occasione — nel corso di episodi influenzali di fine inverno 1950-51, di rilevare alcune particolari forme cliniche simil-influenzali che si differenziavano però — ad un accurato esame — da quelle tipiche influenzali di quel periodo.

La sintomatologia clinica era per lo più caratterizzata da modico rialzo termico, cefalea intensa, brividi di freddo, intensa fotofobia, fatti congiuntivali e accessi di tosse stizzosa.

Fu appunto in occasione di un episodio influenzale che colpì una intera famiglia di cinque persone che si potè studiare attentamente una di queste forme simil-influenzali insorta in un componente della famiglia. E precisamente fu la bimba A. M., di anni 11, che si ammalò dopo che tutti i famigliari avevano superato tipiche forme influenzale (febbre alta ad inizio brusco, brividi, cefalea, astenia, algie muscolari), che nel padre e nella cameriera si complicarono anche con fatti bronco-polmonari. Per la precisione, il primo ad ammalarsi fu il padre che però — ancora febbricitante — dovette recarsi per affari urgenti in Abruzzo dove ha una piccola tenuta. Al suo ritorno (tre giorni dopo), si mise a letto con netta forma broncopolmonare.

In un primo tempo, la piccola A. M. fu sottoposta a trattamenti sintomatici; si pensò trattarsi di lieve forma influenzale presentando essa modica febbre (37,5°C), brividi, cefalea intensa e imponente fotofobia.

---

(20) CARLINFRANTI E.: Rivista Ist. Sier. Italiano - 22 - 20 - 1947.

In occasione di quella visita ci si accorse — per puro caso — della presenza di galline che circolavano liberamente nell'appartamento. Ma ciò che colpì maggiormente l'attenzione fu la particolare sintomatologia che presentavano detti volatili: difficoltà di respiro con emissioni di rantoli, scolo di liquame dal becco, diarrea e paralisi agli arti (in qualche volatile).

La Signora T. riferì che tali galline, comperate tre mesi prima, incominciarono ad ammalarsi qualche giorno dopo il ritorno del marito dall'Abruzzo e cioè circa due settimane prima che si ammalasse la piccola A. M. Riferì, inoltre, che da due anni non teneva in casa del pollame perchè anche allora morivano con la stessa sintomatologia. La bimba A. M., due giorni dopo che si mise a letto, accusò oltre alla sintomatologia sopra descritta e rilevata all'inizio della malattia, anche intensi fatti congiuntivali, con scarsa secrezione e accessi di tosse secca, molto stizzosa, persistente ed un lieve fastidio all'orecchio sinistro.

L'esame di tale parte rivelò trattarsi di modica linfadenite preauricolare, bene rilevabile e dolente alla palpazione.

La bimba — dopo le cure sintomatiche del caso — sfebbrò in 5ª giornata, le cessò la cefalea e le si risolse l'affezione oculare. Perdurò invece per qualche giorno il risentimento ghiandolare preauricolare, mentre gli accessi di tosse stizzosa si diradavano per cessare completamente dopo circa 1 mese.

In considerazione della particolare sintomatologia presentata dalla bimba A. M., e di quella rilevata nei polli si sospettò trattarsi d'infezione da virus di Newcastle.

Pertanto, il giorno 19-3-51 (due giorni dopo le prime manifestazioni cliniche) fu prelevato il sangue alla bimba. Non si poté invece sottoporre la paziente a lavaggio del cavo oro-faringeo e della mucosa oculo-congiuntivale per il rifiuto opposto da questa a tali pratiche.

1 cc. di tale sangue citratato è inoculato nei muscoli pettorali di due giovani polli provenienti da allevamento indenne da pseudo- peste. Dopo pochi giorni d'incubazione (4-5) gli animali contraggono una caratteristica forma di pseudo- peste e muoiono in data 27-3-51.

L'esame anatomico patologico rivela le classiche lesioni di pseudo- peste con emorragie puntiformi caratteristiche ed evidentissime allo stomaco ghiandolare. Dalle colture eseguite dagli organi degli animali si sono isolati scarsi e banali germi privi di qualsiasi potere patogeno.

Le milze dei polli vengono spappolate in un mortaio con soluzione fisiologica e inoculate in sei uova gallate in 10º giorno di incubazione. Dei sei embrioni, due muoiono dopo 16-18 ore, altri due dopo 40 h. e gli ultimi due dopo 48 h. Alle prove colturali tutti gli embrioni risul-

tano sterili. I liquidi allantoidei dei primi due embrioni danno esito negativo alla prova di emoagglutinazione, mentre quelli degli embrioni morti in 40<sup>a</sup> e 48<sup>a</sup> ora danno rispettivamente titoli emoagglutinanti di  $\pm 1 : 1280$  (+ 1 : 640) e  $\pm 1 : 2560$  (+ 1 : 1128).

Con il liquido allantoideo dei 4 embrioni, contenente il virus Anna Maria, vengono inoculati 4 polli.

I polli contraggono una infezione con classica sintomatologia di pseudo- peste e muoiono rispettivamente dopo 5-6-9 giorni dalla inoculazione, mentre il quarto sopravvive. L'esame anatomo-patologico dei tre polli morti conferma la diagnosi di pseudo- peste. Le colture eseguite dagli organi risultano sterili. Colla milza dei tre polli morti si fa una pappa in soluzione fisiologica che viene inoculata in 10 uova gallate in 10<sup>a</sup> giornata d'incubazione. Di esse, due embrioni muoiono in 24 ore, 5 in 48 ore e tre sopravvivono. Il titolo emoagglutinante del liquido allantoideo degli embrioni morti è di 1 : 1024.

Risulta quindi chiaramente che l'inoculazione alternata tra pollo ed embrione, del virus isolato da Anna Maria determina, sia nel pollo che nell'embrione una forma morbosa caratteristica identificabile per malattia di Newcastle.

\* \* \*

Come già si è detto, contemporaneamente all'infezione umana si è manifestata nel pollaio della famiglia una grave epizoozia di pseudo- peste che al momento del nostro intervento aveva portato a morte vari animali con sintomatologia caratteristica.

Il 19-3-51 ci facemmo dare due polli tra i pochi sopravvissuti che presentavano gravi sintomi di infezione. Uno di essi giunse all'Istituto già morto, l'altro decedette il giorno dopo. Entrambi alla necropsia dimostrarono caratteristiche lesioni da pseudo- peste. Gli esami colturali eseguiti dagli organi degli animali deceduti, risultarono positivi per una flora microbica banale, priva di potere patogeno.

Con la milza del 2<sup>o</sup> pollo si fece una pappa in soluzione fisiologica che venne inoculata in 15 uova gallate in 10<sup>a</sup> giornata di incubazione: 10 di tali embrioni morirono dopo 24 ore, 5 dopo 48 ore. Il virus contenuto nel liquido allantoideo di tali uova risultò alle prove di emoagglutinazione positivo a titolo di 1 : 800. Con tale virus vennero inoculati 4 polli. Essi decedettero con sintomatologia classica da pseudo- peste rispettivamente dopo 6-7-7-8 giorni dalla inoculazione. Il reperto necro-

scopico confermò la diagnosi di pseudo-pesto. Con una pappa in soluzione fisiologica fatta con le 4 milze si inocularono 10 embrioni di pollo in 10<sup>a</sup> giornata d'incubazione; 6 di essi vennero a morte dopo 24 ore, 4 dopo 48 ore. Il liquido allantoideo di tali embrioni aveva una attività emoagglutinante a titolo di 1 : 256. Anche in questo caso l'inoculazione alternata tra pollo ed embrione ha dimostrato come il virus isolato sia da considerarsi un classico ceppo di virus Newcastle.

\* \* \*

Allo scopo di meglio identificare e controllare i virus così isolati (virus Anna Maria e virus pollaio) sono state eseguite le seguenti prove.

Con il virus Anna Maria si prepara un vaccino formolato ed adsorbito all'idrossido d'alluminio e si inoculano due polli. Dopo una quindicina di giorni tali polli vengono salassati e col loro siero si fanno prove di emoagglutinazione inibizione nei riguardi sia del virus omologo Anna Maria, cioè del virus che è servito ad immunizzare gli animali, sia del virus isolato dal pollaio.

Con il virus Anna Maria si è avuto un titolo medio di emoagglutinazione inibizione di 1 : 512. Con il virus pollaio si è avuto un titolo medio di emoagglutinazione inibizione di 1 : 700.

L'attività inibente del siero degli animali immunizzati è stata maggiore verso il virus pollaio cioè verso un virus eterologo, di quanto non sia stata nei riguardi del virus Anna Maria cioè del virus che è stato usato per produrre il siero immune. Tale risultato, tanto più perchè paradossoso, conferma la nostra opinione nel ritenere il virus Anna Maria un ceppo di Newcastle.

Contemporaneamente con il virus pollaio si allestisce un'altra partita di vaccino formolato ed adsorbito all'idrossido d'alluminio e si immunizzano due polli. Con il siero immune di tali animali si eseguono prove di emoagglutinazione inibizione nei riguardi sia del virus Anna Maria che di quello omologo usato per la preparazione del vaccino.

Il titolo medio di emoagglutinazione inibizione nei riguardi del virus Anna Maria è stato di 1 : 556 e nei riguardi del virus pollaio (omologo) è stato di 1 : 656.

In questo secondo caso l'azione inibente del siero si è dimostrata lievemente più attiva verso il virus omologo, pur dimostrando spiccata affinità anche nei riguardi dell'altro virus.

I risultati di queste prove crociate di emoagglutinazione inibizione

stanno chiaramente a dimostrare come ci si trovi di fronte a due ceppi di virus simili se non identici.

Inoltre con i due virus, Anna Maria e pollaio, sono state fatte prove di emoagglutinazione inibizione nei riguardi di tre sieri iperimmuni: anti influenzale A, anti influenzale B e anti Newcastle.

I due virus sono stati usati a una concentrazione 16 volte superiore al titolo emoagglutinante massimo al momento dell'esperienza (virus Anna Maria titolo emoagglutinante massimo + 1 : 512, diluizione del virus usata 1 : 32). (Virus pollaio: titolo emoagglutinante massimo 1 : 64, diluizione del virus usata 1 : 4).

I sieri iperimmuni sono stati inattivati a 56°C per mezz'ora e diluiti in soluzione fisiologica a 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160, 1 : 320, 1 : 640, 1 : 1280, 1 : 2560 e 1 : 5120. Di ognuna di tali diluizioni se ne sono messi cc. 0,25 in una serie di provette a cui sono stati aggiunti cc. 0,25 di virus alla diluizione sopra detta e cc. 0,5 di globuli rossi lavati di pollo messi in soluzione fisiologica al 0,5%.

Lettura dopo 45 minuti a temperatura ambiente.

Lettura dopo 45 minuti a temperatura ambiente.

Virus pollaio.

Num. provette	Siero anti inf. A	Siero anti inf. B	Siero anti Newcastle
1	+++ (emoagglutin.)	+++	---- inibizione
2	+++ »	+++	---- »
3	+++ »	+++	---- »
4	+++ »	+++	---- »
5	+++ »	+++	+++ emoagglutin.
6	+++ »	+++	+++ »
7	+++ »	+++	+++ »
8	+++ »	+++	+++ »
9	+++ »	+++	+++ »
10	+++ »	+++	+++ »
11	+++ »	+++	+++ »

Virus Anna Maria.

Num. pro- vette	Siero anti inf. A	Siero anti inf. B	Siero anti Newcastle
1	---- (inibizione)	---- (inibizione)	---- (inibizione)
2	+ --- »	+ --- »	---- »
3	+++ (emoagglut.)	+++ (emoagglut.)	+- - »
4	+++ »	+++ »	+ --- »
5	+++ »	+++ »	+ --- »
6	+++ »	+++ »	+++ (emoagglut.)
7	+++ »	+++ »	+++ »
8	+++ »	+++ »	+++ »
9	+++ »	+++ »	+++ »
10	+++ »	+++ »	+++ »

In tal modo la diluizione finale dei sieri è stata praticamente raddoppiata.

Anche il risultato di queste esperienze conclude, a nostro avviso, come ci si trovi di fronte a due tipici virus di Newcastle: la parziale emoagglutinazione inibizione avutasi per il virus Anna Maria con i sieri anti A e anti B influenzali è infatti avvenuta a titoli così bassi da non poter venire presi in considerazione.

**CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI.**

Dai risultati delle nostre osservazioni ed esperienze riteniamo di potere concludere:

1) L'infezione da Newcastle nell'uomo, già osservata e descritta da numerosi AA. all'estero, non solo è presente anche in Italia, ma probabilmente è assai più diffusa di quanto non si pensi;

2) Circa la via di contagio al pollaio e alla bimba A. M. si possono avanzare due ipotesi:

a) considerare il padre portatore occasionale di virus essendo stato, come già riferito, in una sua tenuta in Abruzzo. Questi o avrebbe trasmesso contemporaneamente ai polli e alla figlia la malattia, oppure avrebbe infettato solo i polli che a loro volta avrebbero contagiato la

bimba. Quest'ultima ipotesi è da ritenersi più probabile in quanto non sono stati finora dimostrati o descritti casi di contagio interumano;

b) Considerare gli uccelli (passeri, fringuelli, ecc.) portatori di virus <sup>(21)</sup>;

3) In genere l'isolamento del virus di Newcastle dell'uomo è stato ottenuto da quasi tutti gli AA. con lavaggio del cavo orofaringeo o della mucosa oculo-congiuntivale e successiva inoculazione in embrioni di pollo. Noi invece abbiamo ottenuto l'isolamento del virus dal sangue dell'ammalato, prelevato in periodo febbrile acuto. Le esperienze rigorosamente condotte non debbono lasciare dubbi sulle possibilità di tale isolamento, possibilità del resto convalidata recentemente cioè quasi contemporaneamente alle nostre osservazioni da HUNTER e coll. <sup>(22)</sup>.

Roma — Istituto Superiore di Sanità — Laboratorio di Microbiologia.

---

(21) PAGNINI U.: Azione veterinaria, 1942 pag. 281.

(22) HUNTER M. C., KEENEY A. H., SIEGEL M. M.: The J. of Inf. Dis. 1951 - 88 - 272.