

15. D. BALDUCCI, L. CASTELLI, A. FELICI, G. MANCINI, M. MIDULLA — **Ricerca sull'etiologia delle meningoneurassiti infantili da virus.**

Riassunto. — Da 67 casi di meningoneurassiti di bambini ricoverati presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Roma sono stati isolati 14 virus poliomielitici, 1 virus Cocksackie B1, 1 virus ECHO 13 e 6 ceppi di virus non tipizzabili.

Non sono stati trovati anticorpi neutralizzanti nei pazienti da cui è stato isolato il virus ECHO 13 e da quelli da cui sono stati isolati 3 virus non tipizzabili.

La reazione di fissazione del complemento, eseguita con 30 antigeni, ha in gran parte confermato i risultati degli isolamenti ed ha permesso di chiarire anche l'etiologia di altri casi da cui non è stato possibile isolare alcun virus.

Résumé. — 14 virus poliomyélitiques, 1 virus Cocksackie B1, 1 virus ECHO 13 et 6 souches de virus pas encore classés, ont été isolés de 67 cas de meningo-neuraxites d'enfants de la Clinique Pédiatrique de l'Université de Rome.

On n'a pas trouvé des anticorps neutralisants chez les patients où on a isolé le virus ECHO 13 et 3 des virus qui n'ont pas été classés.

La réaction de fixation du complément, en utilisant 30 antigènes, a confirmé les résultats des isolements et a permis parfois d'éclairer l'étiologie de quelques cas dans lesquels aucun virus n'avait pas été isolé.

Summary. — From 67 cases of meningo-neuraxitis in babies, treated in the Pediatric Clinic of the University of Rome, the following viruses were isolated: 14 poliomyelitic viruses, 1 Cocksackie B1 virus, 1 ECHO 13 virus and 6 strains of unclassified viruses.

Neutralizing antibodies were not found in the patients from which the ECHO 13 virus and 3 unknown viruses were isolated.

The complement fixation test, carried out with 30 antigens, has largely confirmed the results of the isolations and has also allowed the clarification of the etiology of other cases from which it has not been possible to isolate any virus.

Zusammenfassung. — In 67 Fällen von Meningoneuraxiten in Kindern die in der Pädiatrischen Universitätsklinik von Rom behandelt wurden, konnten 14 Stämme von Poliomyelitis-Virus, 1 Cocksackie B1

Virus, 1 ECHO-Virus und 6 Virusstämme die man keinem Typus zuschreiben konnte, isoliert werden.

In den Patienten aus denen der ECHO-Virus und drei der in keine Virusgruppe einteilbaren Stämme isoliert wurden, sind keinerlei neutralisierende Antikörper vorgefunden worden.

Die mit 30 Antigenen durchgeführte Komplementfixierungsreaktion hat im meisten Teil der Fälle die Ergebnisse der Isolierungen bestätigt und die Klärung der Aetiologie in Fällen in denen es nicht möglich war einen Virus zu isolieren, gestattet.

Complesso e ancora poco conosciuto, dal punto di vista etiopatogenetico, è il capitolo delle meningoneurassiti da virus, sul quale in questi ultimi tempi si è soffermata l'attenzione del clinico e in particolar modo del pediatra che frequentemente si trova a dover indagare e risolvere etiologicamente le diverse forme morbose che costituiscono questo vasto gruppo di affezioni del sistema nervoso.

La sintomatologia clinica non è sempre sufficiente a far porre una precisa diagnosi, perchè spesso è comune a più malattie con identica localizzazione; talvolta anche quadri morbosi con una propria fisionomia clinica e con certa etiologia virale non si differenziano da affezioni solo presumibilmente di origine virale. La forma meningea, ad. es., della malattia di Armstrong o la forma meningomielitica hanno gli stessi segni funzionali rispettivamente della meningite linfocitaria benigna o della poliomielite acuta paralitica. Le diagnosi di meningite acuta, di encefalite, poliradicoloneurite da virus, non sono altro che espressioni cliniche che solo la ricerca etiologica con l'evidenziamento del virus inquadra in entità nosologiche a se stanti. Molti ricercatori hanno rivolto i loro studi sull'indagine etiologica delle meningoneurassiti da virus, sia all'estero (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) che in Italia (1, 2, 3, 4, 16, 17, 18, 19) e il recente sviluppo delle tecniche che hanno permesso la propagazione di numerosi virus in colture in vitro di cellule animali ed umane, ha fatto compiere progressi nell'approfondimento di questo problema.

La nostra presente ricerca si propone di chiarire l'etiologia di 67 casi di meningoneurassiti di presunta origine virale, ricoverati presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Roma.

In base alle nozioni che abbiamo acquisito in questi ultimi anni ed

in base alle esperienze fatte in questo campo, abbiamo creduto opportuno orientare le nostre indagini in maniera da svelare i rapporti esistenti fra i casi clinici presi in esame ed i seguenti gruppi di virus che più facilmente sono sospettati essere gli agenti causali delle meningo-neurassiti nel nostro Paese:

- 1) Virus poliomielitici
- 2) Virus Coxsackie
- 3) Virus ECHO
- 4) Virus della parotite
- 5) Virus della coriomeningite linfocitaria.

Non abbiamo ritenuto utile includere nelle nostre ricerche serologiche il gruppo dei virus « Arbor », essendo stato più volte e da vari autori (^{1, 22, 23}) riscontrata l'assenza dei relativi anticorpi fissanti il complemento, fatta eccezione di un unico caso (³), in una ampia casistica di pazienti con sindromi meningoencefalitiche.

Per ogni caso clinico preso in esame, si è proceduto alle seguenti ricerche:

isolamento del virus
tipizzazione
fissazione del complemento.

MATERIALI E METODI

COLTIVAZIONE DI CELLULE PER COLTURE DI TESSUTI; TERRENI.

Gli isolamenti dei virus sono stati eseguiti su colture in vitro di cellule umane ed animali; sono stati usati i seguenti terreni:

Cellule Hela (Gey):

Terreno di crescita:

Siero umano	20%
Idrolisato di lattalbumina (al 5%)	10%
Soluzione di Hanks	70%

Terreno di mantenimento:

Siero di cavallo	10%
Idrolisato di lattalbumina (al 5%)	5%
Soluzione di Hanks	85%

Cellule di rene umano, ceppo PF (Rita):

Terreno di crescita:

Siero di vitello	5%
Siero di cavallo	20%
Idrolisato di lattalbumina (al 5%) .	10%
Soluzione di Hanks	65%

Terreno di mantenimento:

Siero di vitello	5%
Siero di cavallo	5%
Idrolisato di lattalbumina (al 5%) .	5%
Soluzione di Hanks	85%

Cellule di rene di scimmia. Coltura diretta dall'organo ottenuta mediante tripsinizzazione di frammenti.

Terreno di crescita:

Siero di vitello	3%
Idrolisato di lattalbumina (al 5%) .	10%
Soluzione di Hanks	87% (pH 7,6)

Terreno di mantenimento:

Idrolisato di lattalbumina (al 5%) .	10%
Soluzione di Earle	90% (pH 8,2)

Si aggiungono cm³ 1,5 di tale terreno a cm³ 0,5 del terreno di crescita già presente nella coltura, quando questa ha virato al giallo.

Cellule di rene di suino: come per il rene di scimmia.

MATERIALE BIOLOGICO.

Il materiale biologico dei pazienti presi in esame era costituito da: un campione di feci prelevato mediante un tampone rettale, un campione di liquor cerebro spinale, due campioni di sangue prelevati a distanza di dieci giorni l'uno dall'altro. Talvolta fu anche prelevato un tampone faringeo. I tamponi (rettale e faringeo, costituiti da cotone sterile montato sopra una bacchetta di legno) subito dopo il prelievo venivano immersi in cm³ 2 di soluzione di Hanks contenuta in provetta sterile; la ulteriore preparazione del materiale si otteneva mediante un processo

di congelamento e scongelamento rapido, seguito da centrifugazione a 4000 r.p.m. per 30 minuti. Aggiunti gli antibiotici (200 u.o. di penicillina e 100 di streptomicina per cm^3) il materiale era pronto per l'inoculazione.

TECNICA DEGLI ISOLAMENTI E TIPIZZAZIONE DEI VIRUS.

Gli isolamenti dei virus sono stati eseguiti utilizzando colture di rene di scimmia inoculate con il materiale biologico proveniente da ciascun paziente. L'inoculum era di cm^3 0,1 per il materiale preparato dal tampone rettale e cm^3 0,2 per quello dei tamponi faringei e per il liquor.

Le colture erano tenute in osservazione per 14 giorni.

Se si otteneva un netto fenomeno citopatogeno, si procedeva direttamente ai tentativi di tipizzazione del virus isolato.

Tali tentativi di tipizzazione erano eseguiti sempre in colture di tessuto di rene di scimmia e consistevano nel mettere a confronto il virus isolato con gruppi di sieri standard mescolati. Tali sieri standard erano usati a concentrazioni variabili comprese fra 10^{-1} e 10^{-2} , secondo il loro titolo. Le sospensioni dei virus erano diluite a titoli compresi fra 10^{-1} e 10^{-3} a seconda la velocità di comparsa dei fenomeni citopatogeni in coltura.

Ai tentativi di tipizzazione, eseguiti con gruppi di sieri, facevano seguito tipizzazioni eseguite con singoli sieri quando, attraverso le prime, si riusciva ad individuare il gruppo al quale il virus apparteneva.

Per realizzare tali tipizzazioni, oltre alle prove dirette eseguite con sieri test in colture di tessuti di rene di scimmia, si sono dimostrate di una certa utilità anche le prove indirette di classificazione di tali virus eseguendo inoculazioni in animali, in uova embrionate e studiando gli spettri di citopatogenicità in vari tipi di coltura di tessuti umani ed animali.

FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO.

La reazione di fissazione del complemento era eseguita usando il micrometodo di FULTON e DUMBELL (²⁰) modificato da uno di noi (²¹).

Tutti e trenta gli antigeni usati (25 tipi di Coxsakie (*), 3 tipi di virus poliomielitici, il virus della parotite ed il virus della coriomeningite linfocitaria), sono stati preparati e titolati presso il nostro laboratorio seguendo le tecniche qui riportate.

(*) Malgrado non sia ancora deciso se il virus isolato da Archetti, Rita, Tyrrell, Boissard, ecc., sia un nuovo tipo di Coxsakie A o sia un virus del tipo ECHO 9, noi lo consideriamo tuttora un virus Coxsakie.

PREPARAZIONE DEGLI ANTIGENI PER LA FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO.

Virus poliomielitici: sono stati usati ceppi Brunhilde, MEF₁ e Saukett. Gli antigeni sono stati preparati inoculando colture confluenti di rene di scimmia allestite in bottiglie di Roux. Le sospensioni di virus venivano raccolte un giorno dopo il distacco dal vetro di tutte le cellule. Allontanati i detriti cellulari, mediante centrifugazione a 3000 giri per 10', gli antigeni, inattivati mediante immersione in bagno-maria a 60°C. per 30', erano titolati con sieri umani positivi.

Virus Coxsackie: gli antigeni di 20 tipi di Coxsackie A e 4 tipi di B sono stati preparati inoculando i topi neonati. Gli animali erano uccisi con l'etere e privati dei visceri. Il tronco e gli arti tagliati a pezzettini erano omogeneizzati dopo aver aggiunto 4 volumi di Hanks per ogni volume di materiale. Si congelava e scongelava tale omogeinizzato 6 volte e si centrifugava a 3000 g.p.m. per 10'. Il supernatante limpido è stato adoperato come antigene dopo averlo titolato con siero di topo iperimmune.

Virus della parotite: è stato adoperato il ceppo Enders. Uova embrionate in 7^a giornata d'incubazione erano inoculate nella cavità allantoidea. Le membrane corionallantoidee, prelevate in 13^a giornata erano omogeinizzate con sabbia sterile di quarzo e diluite a parti uguali con Hanks. Dopo centrifugazione a 3000 g.p.m. per 10', il supernatante limpido veniva adoperato come antigene previo controllo con siero umano positivo.

Virus della coriomeningite linfocitaria: per la preparazione di tale antigene sono state inoculate delle cavie. Agli animali, sacrificati nel corso della fase discendente della curva febbrile, veniva asportata la milza.

L'antigene era ottenuto omogeinizzando tali milze in ugual volume di Hanks. Dopo aver centrifugato la poltiglia a 3000 g.p.m. per 10', il supernatante limpido era utilizzato dopo controllo con siero di cavia iperimmune.

RICERCHE SPERIMENTALI

ISOLAMENTO E TIPIZZAZIONE DEI VIRUS CITOPATOGENI.

I materiali biologici provenienti dai 67 pazienti presi in esame sono stati inoculati ciascuno in due colture di rene di scimmia.

Nella seguente tavola sono riportati i virus isolati nel corso di tali

esperimenti. E' anche riportata la diagnosi formulata dal clinico per ciascun gruppo di casi.

Diagnosi clinica	Casi N°	Virus isolati				
		Polio I	Polio III	COX. B 1	ECHO 13	Non tipiz.
1) Poliomielite	11	10	—	—	—	—
2) Encefalite	22	—	—	—	1	2
3) Meningoencefalite	4	—	—	1	—	1
4) Sindrome meningea	24	2	—	—	—	2
5) Atassia d.n.d.d.	2	—	1	—	—	1
6) Polineurite	1	—	—	—	—	—
7) Febbre di n.d.d.	2	1	—	—	—	—
8) Papilla da stasi	1	—	—	—	—	—

Tutti questi isolamenti si sono ottenuti dalle feci. Un solo ceppo di tali virus, che non è ancora stato possibile tipizzare, è stato isolato dal liquor di un bambino affetto da meningoencefalite.

E' da notare come da casi per i quali era stata posta diagnosi di poliomielite si sia avuta una altissima percentuale di isolamenti che hanno sempre rivelato la presenza di virus poliomielitici di tipo I.

Dai casi clinici per i quali erano state poste diagnosi diverse, sono stati invece isolati altri virus in gran parte costituiti da ceppi non appartenenti ai Cocksackie, nè agli ECHO, nè agli adenoidei.

INDAGINI SIEROLOGICHE.

Ricerche sierologiche abbastanza ampie sono state eseguite per 43 di tali pazienti, per i quali è stato inviato al laboratorio un doppio campione di sangue.

E' stata usata la reazione di fissazione del complemento eseguita con i 30 summenzionati antigeni. Mediante tale reazione si sono potuti confermare sierologicamente 9 degli 11 casi per i quali era stata posta diagnosi di poliomielite. Positività per gli antigeni polio si è anche avuta per 4 altri casi per i quali erano state fatte le seguenti diagnosi: encefalite, meningoencefalite, sindrome meningea.

Sul doppio campione di sangue di un altro caso di encefalite, è stato riscontrato un'aumento degli anticorpi per il virus Cocksackie A 17.

Non è mai stato riscontrato nei casi da noi presi in esame un aumento degli anticorpi per i virus della parotite e della corimeningite linfocitaria.

STORIE CLINICHE

Riteniamo opportuno far seguire le storie cliniche di pazienti da cui sono stati isolati virus di un certo interesse.

1) F. Claudia: mesi 2.

Ingresso in clinica il 24-10-56. 14 giorni prima del ricovero la bambina cominciò a presentare, in apiressia, crisi di apnea con ipertonia diffusa, rotazione dei bulbi oculari verso l'alto cianosi, emissione di bava dalla bocca e perdita di feci. Tali crisi si sono presentate anche più volte nella giornata e talvolta si accompagnavano a vomito. Negli intervalli la bambina stava bene.

Esame obiettivo: stato di incoscienza quasi completo. Notevole pallore della cute. Non cianosi. Respiro prevalentemente diaframmatico, stertoroso. Lieve ipertonia della nuca, non Koernig, modica ipertonia degli arti superiori.

Puntura lombare: estrazione di cm³ 10 di liquor limpido che fuoriesce a gocce ravvicinate. Press. al Claude: iniziale: 30. Finale 20.

Albumina 0,10%; glucosio 1,41%

Nonne: negativa; Pandy: positiva

Cellule 3/mm³.

Fino al 24-11-56 le condizioni permangono stazionarie con alternative di lievi miglioramenti e peggioramenti.

Viene dimessa il 10-12-56 migliorata.

Ricerche virologiche:

Si isola dalle feci un virus Coxsackie B1 che risulta essere citopatogeno in coltura di rene di scimmia, di rene umano e di cellule Hela.

In due campioni di sangue della paziente si ritrovano anticorpi neutralizzanti a titolo superiore a 1:512.

2) C. Gennaro: mesi 3 e mezzo.

Ingresso in clinica il 26-7-56. Cinque giorni prima del ricovero, emissione di numerose scariche diarroiche, liquide, mucose; saltuariamente vomiti alimentari. Il giorno precedente all'ingresso temperatura febbrile a 40°.

Esame obiettivo: condizioni generali gravi. Stato di nutrizione: scadente. Fontanella anteriore depressa. Occhi alonati; infossati. Mucosa orale asciutta. Rantoli da spiegamento alle due basi polmonari. Addome meteorico, non segni meningei.

Durante il primo giorno di ricovero improvvisamente: ipertonia generalizzata con piccole scosse prevalenti all'arto superiore sinistro ed inferiore destro. La fontanella anteriore è tesa e pulsante. Si pratica la *puntura lombare*: estrazione di cm^3 20 di liquor limpido che fuoriesce a zampillo. Press. al Claude: iniziale: 35. Finale: 15.

Albumina: 0,10‰; glucosio: 0,68‰.

Nonne e Pandy: negative

Cellule: 2/mm³.

Decorso: dopo un apparente miglioramento e alcuni giorni di apiresia al 15° giorno di ricovero ripresa della temperatura febbrile (38°), alvo diarroico con numerose scariche liquide, mucose e frequenti vomiti biliari. Al 32° giorno, malgrado la terapia antibiotica (terramicina, aureomicina) il bambino improvvisamente decede.

Ricerche virologiche: si isola dalle feci un virus che non risulta essere nè poliomielitico, nè Coxsackie, nè ECHO, nè adenoideo di quelli fino ad oggi noti. Tale virus è citopatogeno solo per le cellule di rene di scimmia. Nel sangue del paziente non si riscontrano anticorpi neutralizzanti per tale virus.

3) N. Anita: mesi 5.

Ingresso in clinica il 1-11-55.

La notte precedente al ricovero è insorto vomito; al mattino temperatura febbrile (38°). La sera, due ore prima del ricovero, attacco convulsivo generalizzato a tipo clonico che perdura al momento dell'ingresso.

Esame obiettivo: condizioni generali gravi. Dermografismo rosso, pronto e persistente. Stato d'incoscienza. Tono muscolare aumentato. Modica rigidità nucale. Insufficienza del facciale di destra. Pupille scarsamente reagenti allo stimolo luminoso. Scosse di nistagmo. Strabismo per insufficienza del retto esterno di destra. Accenno al Brudzinky e Koernig. Riflessi patellari vivaci.

Puntura lombare: estrazione di cm^3 10 di liquor limpido che fuoriesce a zampillo. Press. al Claude: iniziale: 80. Finale: 20.

Albumina: 0,10‰; glucosio: 0,61‰.

Cellule: 40/mm³.

La malattia esita in paraplegia spastica. La bambina viene dimessa in buone condizioni di nutrizione dopo 11 mesi di ricovero.

Ricerche virologiche: si isola dalle feci un virus che non risulta essere nè un poliomielitico, nè un Coxsackie, nè un ECHO, nè un adenoideo di quelli finora tipizzati.

Questo virus risulta citopatogeno solo in colture di rene di scimmia. In tre campioni di sangue prelevati in 2^a, 29^a, 44^a giornata di malattia non si sono messi in evidenza nel siero anticorpi neutralizzanti per tale virus.

4) P. Olga: anni 2 e mezzo.

Ingresso in clinica il 22-9-55.

20 giorni prima del ricovero eruzione maculopapulosa con febbre elevata (39°), diagnosticata morbillo. Al 4° giorno di malattia scompare la temperatura e la bambina lascia il letto, ma comincia a presentare andatura incerta e barcollante, con tendenza a cadere all'indietro. La bambina peraltro si rifiuta di camminare, è astenica, prostrata, anoressica. Non ha presentato mai vomito, nè febbre; alvo stitico.

Esame obiettivo: la stazione eretta è possibile solo ad arti inferiori divaricati e con appoggio. Non sorretta tende a cadere all'indietro. La deambulazione senza appoggio è possibile, si apprezza però andatura barcollante e tendenza a cadere all'indietro. Ad occhi chiusi le oscillazioni non aumentano di intensità. Timpanismo cranico normale. Non segni meningei. Riflessi normali. Non nistagmo.

Puntura lombare: si estraggono cm³ 15 di liquor limpido che fuoriesce a gocce ravvicinate. Press. al Claude: iniziale: 32. Finale: 18.

Albumina: 0,05‰; glucosio: 0,45‰.

Cellule: 6/mm³.

Nonne e Pandy: negative.

Ricerche virologiche: si isola dalle feci un virus che non risulta essere nè un poliomielitico, nè un Coxsackie, nè un ECHO, nè un adenoideo di quelli fino ad oggi noti. Tale virus risulta essere citopatogeno solo in colture di rene di scimmia.

I sieri prelevati in 70° e 80° giorno di malattia hanno neutralizzato il virus rispettivamente ai titoli 1:16 e 1:64.

5) T. Marco: anni 6.

Ingresso in clinica il 25-6-56.

16 giorni prima del ricovero viene praticata per la prima volta vaccinazione antivaaiolosa. Dopo 2 giorni febbre a 38° con tumefazione ed arrossamento delle tonsille. Al 5° giorno dalla vaccinazione scompare la temperatura febbrile e regredisce l'affezione tonsillare. All'8° giorno riappare la temperatura febbrile (38°). La reazione locale della vaccinazione è modica. Al 12° giorno: coma, contrazione tonica generalizzata, bulbi oculari immobili. Vomito per la prima volta.

Esame obiettivo: condizioni generali assai gravi. Stato d'incoscienza completo. Evidente trisma. Faringe arrossato. Modica rigidità della nuca. Motilità attiva assente, passiva: ipertono generalizzato. Assenti i riflessi addominali e cremasterici. Patellari vivaci bilateralmente; achillei con trepidazione; Babinsky bilaterale. Pupille isocoriche, miotiche, non reagiscono allo stimolo luminoso. Dermografismo rosso assai spiccato.

Puntura lombare: si estraggono cm³ 25 di liquor limpido che fuoriesce a zampillo. Press. al Claude: iniziale: 40. Finale: 10.

Albumina: 5,50‰; glucosio: 0,94‰.

Nonne e Pandy: negative.

Cellule: 8/mm³.

Decorso: a tratti il bambino presenta crisi di ipertono generalizzato.

Il 3° giorno del ricovero: paralisi dei muscoli respiratori, temperatura febbrile elevata. Il bambino viene posto nel polmone d'acciaio.

Le condizioni permangono gravi per vari giorni. Al 16° giorno la temperatura si abbassa e si apprezza modico miglioramento della funzione respiratoria. Permane la tetraparesi flaccida.

Ricerche virologiche: le feci ed liquor inoculati direttamente in coltura di tessuti di rene di scimmia sono risultati negativi. Gli stessi materiali inoculati in topi neonati hanno provocato la morte in 5 giorni senza evidenti segni di paralisi. Il tronco di tali animali è stato emulsionato con Hanks e ripassato in colture di rene di scimmia. E' comparso un effetto citopatogeno molto simile a quello provocato dal virus vaccinico e con formazione di tipiche inclusioni intracitoplasmatiche e sincizi contenenti sino a varie decine di nuclei.

Il virus isolato, che è patogeno anche in colture di fegato umano, non è però emoagglutinante, non si adatta alla membrana dell'uovo embrionato di pollo, non dà lesioni sulla cornea e sulla pelle del coniglio ed è solo parzialmente neutralizzato dai sieri anti virus vaccino.

In 2 prelievi di sangue eseguiti al 10° e 23° giorno di malattia non si sono trovati anticorpi neutralizzanti per tale virus. Le neutralizzazioni per il virus vaccino eseguite con gli stessi campioni di sangue hanno dato rispettivamente i titoli di 1:4 e 1:8.

6) F. Giuseppe: anni 2.

Ingresso in clinica: 1-6-56.

3 giorni prima del ricovero comparsa di accessi convulsivi generalizzati della durata di 1' circa, caratterizzati da scosse cloniche degli arti, rotazione dei bulbi oculari; seguiva stato di ipertonia, cianosi del volto,

perdita di feci. Non febbre. Negli intervalli: assopimento ed anoressia, contrazioni toniche del tronco e degli arti ad ogni stimolo esterno.

Esame obiettivo: sensorio obnubilato, a tratti modica ipertonia muscolare specie agli arti inferiori. Pupille di media ampiezza reagenti torpidamente allo stimolo luminoso. Modica ipertonia della nuca. Riflessi patellari particolarmente vivaci.

Puntura lombare: si estraggono cm³ 10 di liquor xantocromico che fuoriesce a gocce distanziate.

Albumina: 0,05‰; glucosio: 0,55‰.

Pandy e Nonne: negative.

Cellule: 67/mm³.

Ricerche virologiche: si isola dalle feci un virus ECHO 13 che risulta patogeno solo per le colture di rene di scimmia.

In un unico campione del siero prelevato in 36^a giornata di malattia non sono presenti anticorpi neutralizzanti per tale virus.

7) A. Nicolò: anni 4.

Dopo alcuni giorni di tosse stizzosa, improvvisamente durante la notte (1-10-56) vomito a tipo cerebrale, intensa cefalea localizzata alla regione nucale, posizione delle gambe a cane di fucile, temperatura febbrile a 38°.

Esame obiettivo: sensorio integro. Koernig positivo, riflessi conservati. Possibile la stazione eretta, la deambulazione è difficile con caduta all'indietro.

Puntura lombare: fuoriuscita di liquor limpido a gocce ravvicinate.

Albumina: 0,05‰; glucosio: 0,50‰.

Nonne e Pandy: negative.

Cellule: 20/mm³.

Dopo la rachicentesi il bambino presenta rigidità nucale pressochè assoluta e paresi agli arti inferiori. Due giorni dopo modica ripresa funzionale dell'arto inferiore di sinistra, scomparsa della rigidità nucale.

Dopo 10 giorni la ripresa funzionale degli arti inferiori è quasi completa, la deambulazione ritorna pressochè normale se si eccettuano lievi sbandamenti nella deambulazione controllata.

Ricerche virologiche: si isola dal liquor un virus che non risulta essere nè un virus poliomielitico, nè un Cocksackie, nè un ECHO, nè un adenovideo di quelli fino ad oggi noti. Tale virus risulta essere citopatogeno in colture di rene di scimmia e di cellule Hela.

Nel siero del paziente, prelevato in 20° giorno di malattia, vengono messi in evidenza anticorpi neutralizzanti al titolo 1:32.

CONCLUSIONE

La ricerca etiologica, condotta sui 67 bambini affetti da meningo-neurassiti, ha portato all'isolamento di virus in 22 casi, permettendo così di collegare particolari sindromi neurologiche febbrili con la presenza di virus, di cui alcuni appartenenti a tipi noti ed altri nuovi, non facilmente tipizzabili.

Di tali isolamenti, 14 (il 63%) è rappresentato da virus poliomielitici, in massima parte del tipo I, che confermano 10 volte su 11, la diagnosi di m. di Heine Medin formulata dal clinico. Un solo virus polio tipo III, è stato isolato dalle feci di una bambina che presentò turbe accentuate della deambulazione per ben due volte a distanza di 6 mesi l'una dall'altra, con comparsa di temperatura febbrile di breve durata, solo nella prima manifestazione morbosa.

Dal gruppo delle manifestazioni cliniche diagnosticate come « sindrome meningea » sono stati isolati 4 virus, (con una percentuale del 16%), 2 appartenenti al gruppo dei polio tipo I, 2 non tipizzabili. Di questi 1, (unico caso nella nostra attuale ricerca) è stato isolato dal liquor di un bambino affetto da una meningoneurassite a decorso benigno; tale virus ha prodotto la comparsa di anticorpi neutralizzanti nel siero del paziente, prelevato dopo 20 giorni dall'inizio della malattia.

In corso di meningoencefaliti è stato possibile isolare virus, dalle feci dei pazienti, nel 50% dei casi; si è isolato un virus Coxsackie B1 e un virus non tipizzabile.

Del gruppo delle encefaliti, la percentuale degli isolamenti è stata circa del 13%; si è isolato un virus ECHO 13 e due virus non tipizzabili, di cui uno di particolare interesse proveniente da un bambino affetto da encefalite in corso di vaccinazione.

Questi dati svelano la presenza di nuovi virus enterici i cui rapporti con la patologia umana non sono ancora perfettamente chiari; è un dato però che tali virus, ora isolati, ci permetteranno di compiere ricerche epidemiologiche più approfondite e più vaste.

Quanto ai mezzi usati e che stiamo usando per attuare tali ricerche, dobbiamo dire che, per quello che riguarda possibilità di isolamenti, le colture di rene di scimmia sono tuttora quelle che, all'atto pratico, risultano le migliori.

Le cellule umane appartenenti a ceppi in coltura continua risultano meno adatte per gli isolamenti perchè più delicate e sensibili all'azione

di prodotti tossici. Tali cellule risultano invece molto utili all'atto della tipizzazione del virus, perchè da quello che è lo spettro di citopatogenicità, già ci si può orientare circa la famiglia o le famiglie a cui appartengono, tranne poi naturalmente a completare l'indagine con le prove di neutralizzazione con sieri test.

Quanto alla fissazione del complemento eseguita con 30 antigeni, c'è da dire che ciò richiede uno sforzo di preparazione tale da sembrare forse eccessivo rispetto ai risultati che si possono raggiungere. Noi siamo dell'opinione che dopo un sondaggio di questo genere, convenga ridurre il numero degli antigeni a quelli più comuni ed a quelli che più facilmente risultano essere gli agenti etiologici delle meningoencefaliti.

Tale scelta è oltremodo necessaria per i virus Coxsackie che già sono così numerosi e che alla fissazione del complemento risultano tipo-specifici. Un'analisi del genere viene compiuta da alcuni di noi ed ha già portato ad alcuni tangibili risultati ⁽¹⁹⁾.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Microbiologia e Clinica Pediatrica della Università.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BALDUCCI D., FELICI A. - Gior. Mal. Inf. Par., 8: 148 (1956).
- (²) TYRRELL D., BALDUCCI D., SNELL S., ZAIMANN E. - Lancet, 398: 123 (1957).
- (³) ARCHETTI I., FELICI A. - Riv. Ist. Sierot. Ital., 31: 265 (1956).
- (⁴) ARCHETTI I., FELICI A., RUSSI F., FUÀ C. - Scientia Med. Ital., 3: 321 (1956).
- (⁵) GODENNE M. O., RIORDAN J. T. - J.A.M.A., 158: 707 (1956).
- (⁶) DUNCAN D., RHODES A. J., MCNAUGHTON G. A., JOHNSON C., WOOD W. - Canadian J. Pub. Health, 46: 1 (1955).
- (⁷) ACHESON E. D. - Lancet - 267: 1044 (1954).
- (⁸) BAYER P., GEAR J. - S. Africa J. Lab. Clin. Med., 1: 22 (1955).
- (⁹) DAVIS D. C., MELNICK J. L. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 92: 839 (1956).
- (¹⁰) BEALE A. J., DUNCAN D., STACKI W., DAVIS N., DEMPSTER G., RHODES A. - Canad. J. Publ. Health, 47: 179 (1956).
- (¹¹) MC LOED D. L., BEALE A. J., MCNAUGHTON G. A., RHODES A. J. - 271: 701 (1956).
- (¹²) TYRRELL D., SNELL B. - Lancet, 271: 1028 (1956).
- (¹³) BOISSARD G. P., STOKES J. L., MACREA A. D., MACCALLUM F. O. - Lancet, 272: 300 (1957).
- (¹⁴) GARNETT D. G., BURLINGHAM A., VAN ZWANENBERG - Lancet, 272: 300 (1957).
- (¹⁵) ROTERN C. E. - Lancet, 272: 302 (1957).
- (¹⁶) RITA G., RUSSI M., FISHER-FANTUZZI L. - Riv. Ist. Sierot. Ital., 31: 266 (1956).
- (¹⁷) MONACI V., BONETTI F. - Boll. I.S.M., 32: 434 (1953).
- (¹⁸) MONACI V., BONETTI F. - Boll. I.S.M., 33: 313 (1954).
- (¹⁹) CASTELLI L., BALDUCCI D., MANCINI G. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 20: 1069 (1957).
- (²⁰) FULTON F., DUMBELL K. R. - J. Gen. Micr., 3: 97 (1949).
- (²¹) BALDUCCI D., ZAIMANN E., TYRRELL D.A.J. - Brit. J. Exp. Pat., XXXVII, 2: 205 (1956).
- (²²) DE RITIS A. - Giorn. Mal. Inf. Parass., 4: 131 (1952).
- (²³) BABUDIERI B. - Comunicazione personale.

Direttore responsabile: Prof. DOMENICO MAROTTA

Reg. Stampa - Trib. di Roma n. 1534 del 14 luglio 1956