



ISTITUTO «CARLO FORLANINI»
CLINICA FISIOLÓGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
DIRETTORE: PROF. E. MORELLI

Dott. GIUSEPPE DI GERONIMO

**AZIONE MENINGO-MIELITOGENA
DEL VIRUS INFLUENZALE NEL CONIGLIO**
(RICERCHE SPERIMENTALI)

Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO «CARLO FORLANINI»
Anno IV, N. 1-2, Pag. 117-124



ROMA
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA
Via Emilio Morosini, 17

—
1940-XVIII



AZIONE MENINGO-MIELITOGENA
DEL VIRUS INFLUENZALE NEL CONIGLIO (*)

(Ricerche sperimentali).

Dott. GIUSEPPE DI GERONIMO

DADDI e PANÀ (1), di fronte alla molteplicità dei fattori che possono entrare in giuoco nella patogenesi dell'encefalite, hanno creduto opportuno di richiamare l'attenzione sui rapporti tra l'encefalite e il virus filtrabile della influenza ricordando che nella pandemia del 1918 si notò la repentina comparsa di una quantità notevole di casi di encefalite e dai vari AA. fu avanzata la ipotesi che fra queste due malattie intercorressero rapporti etiologici. Gli stessi AA. (2) nei cervelli di 55 topolini inoculati per via intranasale osservarono la mancanza di lesioni infiammatorie e di reazioni meningee e gliali e conclusero che nel topolino così trattato il virus influenzale non è encefalitogeno. Il reperto negativo così ottenuto non parve sufficiente a DADDI e PANÀ per escludere che il virus influenzale venuto a diretto contatto col sistema nervoso centrale potesse dare le lesioni encefalitiche o meningo-encefalitiche. Essi (3) perciò, dato che altri virus quali quello del linfogranuloma inguinale e quello della malattia Hodkin, iniettati intracerebralmente nel coniglio, determinano nel corso di alcuni giorni la comparsa di fenomeni nervosi caratteristici sostenuti nel caso del morbo di Hodkin da una meningo-encefalite linfocitaria, hanno voluto vedere se nel coniglio anche il virus influenzale iniettato per via intracranica fosse in grado di causare lesioni nel sistema nervoso centrale. Dalle esperienze compiute, DADDI e PANÀ conclusero che i ceppi di virus influenzale iniettati per via intracranica nei conigli determinavano con grande frequenza lesioni meningee a tipo linfocitario di grado diverso e in molti casi lesioni encefalitiche. E da notare inoltre che il virus influenzale può venire trasmesso in serie per via intracranica nel coniglio conservando la sua patogenicità del topolino secondo le ricerche di CERRUTI e DI AICHELSBURG (4).

A completamento delle ricerche eseguite in questo Istituto da DADDI e PANÀ, abbiamo voluto vedere se il virus influenzale possedesse un'azione meningo-mielitogena.

Su questo argomento, nonostante avessimo con diligenza indagato, non ci è stato possibile rintracciare delle pubblicazioni. Abbiamo trovato solo qualche lavoro non sperimentale, ma di indole clinica. LASZLO e NOVOTNI (5) hanno osservato che durante un'epidemia influenzale una stragrande maggioranza di casi presentava solo alterazioni lievissime meningo-mielitiche, mentre il quadro clinico della grande encefalite come la conoscevano i psichiatri non si sviluppò in tutta la gravità, STIEFLER (6) riferisce su 25 casi con disturbi nervosi influenzali dovuti, a suo giudizio, a piccolissimi focolai nel midollo spinale. FLATAU (7) riferisce durante l'epidemia degli anni 1938-39, su 25 casi in cui si manifestarono in prevalenza fenomeni spinali e periferici accanto a

(*) Pervenuto in redazione il 15 giugno 1939-XVII.

quelli cerebrali. CROCHET e VERGER (8) descrivono nel 1926 fra i diversi gruppi di encefalopatie, uno più grande di 28 casi di una forma mielitica, chiamandola forma bassa dell'encefalo mielite-epidemica. SCHNEIDER (9) su 66 casi negli anni 1927-1931 i quali si rassomigliavano alla meningite asettica tipica, in alcuni di essi a decorso acuto letale mise in evidenza alterazioni polio-mielitiche.

TECNICA DELLE ESPERIENZE.

Per le nostre esperienze ci siamo serviti del ceppo W.S. Polmoni di 3 topolini infettati per via intranasale da 48 ore ed uccisi col cloroformio venivano pesati e poi triturati con sabbia di quarzo sterile: la pappa di tessuto polmonare così ottenuta veniva ripresa con parti eguali di brodo semplice e soluzione fisiologica nella proporzione di 1 cc. per ogni 100 mg. di polmone e poi filtrata per Chamberland L1. Ogni volta si controllò la sterilità della soluzione con le abituali prove colturali. Con la sospensione di virus influenzale così preparata, si iniettarono 14 conigli ciascuno dei quali ricevette la quantità di 1/2 cc. del virus stesso. I conigli furono divisi in 3 gruppi ed inoculati a distanza di tempo: in tal modo, usando 3 diverse sospensioni di virus, si cercò di evitare che un'eventuale causa di errore legata alle sospensioni stesse falsasse l'insieme dei risultati.

Per l'esame istologico veniva prelevato il midollo spinale del coniglio *in toto* e pezzi delle diverse sezioni di esso venivano fissati in formalina, poi inclusi in paraffina, indi colorati con i metodi abituali. La stessa tecnica si usava per i pezzi di polmone del coniglio.

Primo gruppo: 17 febbraio 1939.

CASO 1°. — Coniglio n. 1001.

S'inocula nello speco vertebrale in maniera alquanto indaginosa, perchè si affonda diverse volte l'ago infruttuosamente, all'altezza della colonna lombare 1/2 cc. di filtrato. Si nota un modico stato paretico degli arti posteriori dopo di che il coniglio si riprende. L'animale muore dopo 48 ore con paralisi del treno posteriore. Con la stessa tecnica usata per la preparazione del virus col polmone del topolino, ma dopo 24 ore perchè ci fu impossibile farlo prima, si prepara il filtrato col midollo del coniglio e se ne instillano alcune gocce nelle narici del topolino.

Reperto anatomo-patologico del coniglio: segni di congestione meningea spinale e presenza di una piccola zona iperemica del lobo sup. del polmone D. Questa zona di polmone, so'ò dopo 24 ore, perchè ci fu impossibile farlo prima, viene trattata come i polmoni del topolino nei diversi passaggi per virulentare il virus. Il topolino così inoculato muore dopo 24 ore con reperto broncopomonitico. Poichè il materiale del coniglio è stato adoperato a 24 ore di distanza dalla necropsia, per maggior sicurezza il polmone del topo viene filtrato attraverso candela ed inoculato in altro topolino che si sacrifica dopo 5 giorni e dà reperto polmonare negativo. Anche il topo inoculato con il midollo del coniglio sacrificato dopo 4 giorni dà un reperto polmonare negativo.

Reperto istologico del midollo del coniglio: meningite purulenta, focolaio ascessuale nell'interno della sostanza bianca del midollo spinale. Il reperto è esteso a tutta la lunghezza dell'asse.

Reperto istologico del polmone del coniglio: broncopolmonite catarrale a focolai disseminati risultata non specifica all'esame batteriologico.

CASO 2°. — Coniglio n. 1002.

Si inocula nello speco vertebrale, senza averne la certezza perchè si affonda diverse volte l'ago invano, all'altezza della colonna lombare 1/2 cc. di filtrato. Il coniglio muore

dopo circa 48 ore con paralisi del treno posteriore. Con la solita tecnica si prepara il filtrato col midollo del coniglio e se ne istillano alcune gocce nelle narici del topolino.

Reperto anatomico-patologico macroscopico del coniglio: le meningi spinali sono notevolmente emorragiche, nulla si rileva a carico dei polmoni.

Reperto istologico del midollo del coniglio: leptomeningite purulenta diffusa.

Reperto anatomico-patologico di un topolino trattato con pappa di midollo spinale del coniglio: nulla di patologico.

CASO 3°. — Coniglio n. 3235.

Si inocula nello speco vertebrale, all'altezza della colonna lombare, 1/2 cc. di filtrato. Nessun disturbo immediato. L'animale viene sacrificato, med ante dissanguamento con l'apertura della femorale, il 27 febbraio cioè dopo 10 giorni.

Reperto anatomico-patologico: segni di congestione meningea con emorragia ed ai polmoni due zone di pneumonite.

Col midollo, subito dopo il suo isolamento, si prepara con la nota tecnica il filtrato attraverso candela e si inocula un topolino che muore dopo 24 ore, di cui l'esame anatomico-patologico fa osservare una polmonite massiva bilaterale emorragica.

Reperto istopatologico del midollo del coniglio: tutti i vasi della leptomeningite sono enormemente congesti e dilatati, in alcuni punti si scorgono fenomeni emorragici assai bene evidenti. Esiste anche un essudato composto di cellule linfocitarie diffuse: specie nell'area corrispondente zona lombare e dorsale del midollo stesso.

Tale essudato forma uno strato non continuo, vi sono inoltre scarsissimi leucociti polinucleati. Nell'interno del midollo, almeno per quanto si può vedere con i comuni mezzi di colorazione, si riscontra un'infiltrazione di cellule gliali.

Il polmone di detto coniglio presenta le note di una broncopolmonite diffusa con molto essudato plasmatico endoalveolare.

CASO 4°. — Coniglio n. 3001.

Si inocula il virus senza avere la certezza di essere nello speco vertebrale. Il coniglio vive benissimo e dopo 25 giorni viene sacrificato.

Con il midollo trattato come al solito viene inoculato un topo che è sacrificato dopo 7 giorni.

Reperto anatomico-patologico del midollo spinale e dei polmoni del coniglio: normale.

Reperto anatomico-patologico del topolino trattato col midollo: negativo.

CASO 5°. — Coniglio n. 7346.

Si inocula, senza averne la sicurezza, nello speco vertebrale all'altezza della colonna lombare, 1/2 cc. di virus ottenuto come sopra si è detto. Il coniglio non dà segno alcuno di sofferenze e viene sacrificato dopo 20 giorni.

Si inocula un topolino con il filtrato del midollo spinale del coniglio trattato come al solito e l'animale viene sacrificato dopo 6 giorni.

I reperti anatomico-patologici del midollo spinale e dei polmoni del coniglio nonché quello dei polmoni del topolino sono completamente negativi.

Secondo gruppo: 27 febbraio 1939.

CASO 6°. — Coniglio n. 4308.

Si inocula all'altezza della colonna lombare nello speco vertebrale 1/2 cc. di filtrato, si nota subito una lieve paresi del treno posteriore. L'animale viene sacrificato dopo 10 giorni. All'esame autoptico: congestione meningea notevole, pneumonite del lobo sup. di destra. Con un pezzo di midollo del coniglio si inocula un topolino che ucciso dopo 4 giorni, presenta reperto polmonare broncopolmonitico.

Con un pezzo di polmone di coniglio si prepara una sospensione come quella che si allestisce con i polmoni dei topolini per avere la sospensione del virus influenzale e si inocula un topo che muore dopo due giorni con note accentuate di broncopolmonite.

Reperto isto-patologico del midollo: anche qui si nota notevole congestione della leptomeninge e dei vasi che sono in qualche zona notevolmente dilatati; si osservano fatti emorragici. Si nota inoltre la presenza di un essudato formato di cellule linfocitarie in gruppi più numerosi nelle zone lombari e dorsali e qualche leucocita polinucleato.

Reperto isto-patologico del polmone del coniglio: segni di broncopolmonite emorragica diffusa con abbondante essudazione di plasma negli alveoli.

CASO 7°. — Coniglio n. 4516.

Si inocula nello speco vertebrale, all'altezza della colonna lombare, 1/2 cc. di filtrato; subito il coniglio ha segni di paresi dell'arto posteriore dal lato inoculato. L'animale muore dopo 48 ore.

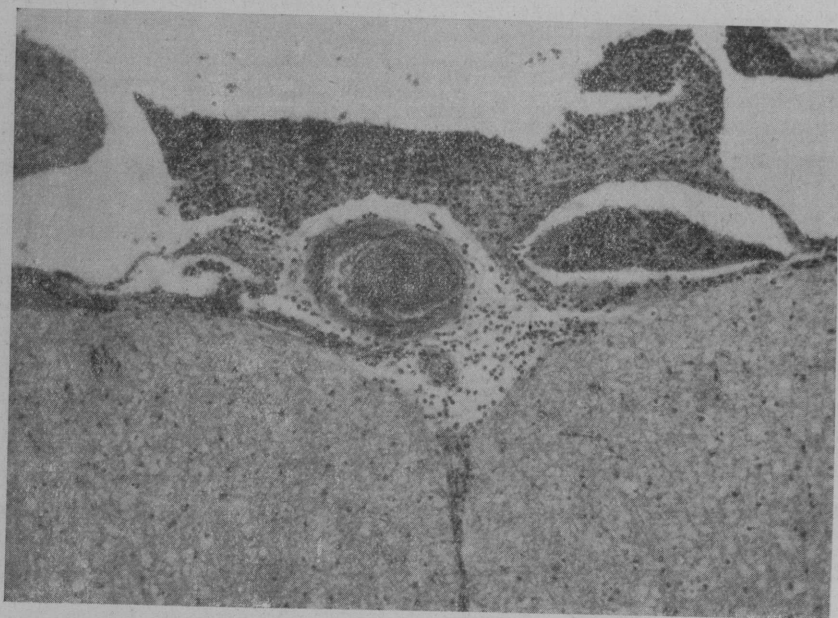


Fig. 1.

Coniglio n. 4516. — Essudato linfocitoide ed iperemia.

Reperto anatomo-patologico: discreta iperemia meningea. Pneumonite massiva emorragica di due polmoni.

Reperto isto-patologico del midollo: (v. fig. n. 1) tutta la superficie del midollo è infiltrata da uno strato non molto alto di linfociti frammentari ad essi un qualche raro leucocita polinucleato e qualche emazia. I vasi sono pure congesti. La parte midollare e le cellule nervose presentano fenomeni degenerativi.

Reperto isto-patologico del polmone: noduli di broncopolmonite.

CASO 8°. — Coniglio n. 3196.

Dopo alcuni tentativi indaginosi si inocula 1/2 cc. di filtrato nello speco vertebrale della colonna lombare. L'animale muore dopo 26 ore con fenomeni di paralisi completa del treno posteriore.

Reperto anatomo-patologico: notevole suffusione emorragica del midollo spinale. Nulla ai polmoni.

Reperto isto-patologico del midollo: insieme con un essudato riccamente emorragico si nota la presenza degli elementi monocitari già descritti, in grande quantità, esistono inoltre cellule nervose in preda a vacuolizzazione, molti leucociti polinucleati e fibrina. (Meningite mista).

CASO 9°. — Coniglio n. 2358.

Si inocula 1/2 cc. di filtrato nello speco vertebrale della colonna lombare. L'animale viene sacrificato dopo 24 ore.

Reperto anatomo-patologico: nulla al midollo. Qualche zona iperemica nei polmoni.

Reperto isto-patologico del midollo: una notevole quantità di linfociti copre tutta la superficie del midollo (v. fig. 2) e si nota pure qualche leucocita e un discreto numero

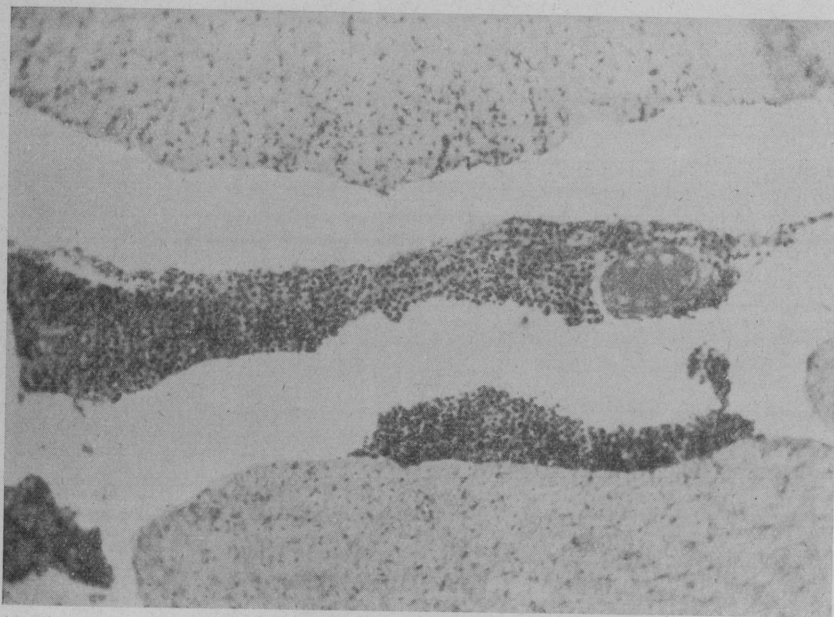


Fig. 2.

Coniglio n. 2358. — Essudato linfocitoide.

di emazie. I vasi delle meningi sono turgidi; le cellule nervose sono abbastanza degenerate.

Reperto isto-patologico del polmone: focolai di broncopolmonite emorragica.

CASO 10°. — Coniglio n. 3532.

Si inocula con mezzo cc. i parti eguali di brodo semplice e soluzione fisiologica, nello speco vertebrale all'altezza della colonna lombare. Nessun disturbo ne consegue. Il coniglio vive benissimo e viene sacrificato al 7° giorno.

Reperto anatomo-patologico ed isto-patologico: negativi.

Terzo gruppo: 6 marzo 1939.

CASO 11°. — Coniglio n. 7346.

Col midollo del coniglio n. 3532, caso n. 10, si prepara una pappa con la stessa tecnica eseguita per ottenere il virus dal polmone dei topolini, e si inocula 1/2 cc. di essa nello speco vertebrale della sezione lombare. L'animale viene sacrificato dopo 10 giorni.

Reperto anatomo-patologico ed isto-patologico: negativi.

CASO 12°. — Coniglio n. 8001.

Si inocula nello speco vertebrale all'altezza della colonna lombare 1/2 cc. di filtrato; il coniglio viene sacrificato dopo 20 giorni.

Reperto anatomo-patologico: segni di meningite emorragica e broncopolmonite destra emorragica.

Col midollo di questo coniglio, trattato come si è detto in nanzi, viene inoculato per via nasale un topo che muore dopo 48 ore con note evidentissime di broncopolmonite emorragica subtotale.

Reperto isto-patologico del midollo del coniglio: congestione e dilatazione dei vasi della leptomeninge che presentano fatti emorragici molto notevoli con una essudazione di gran numero di leucociti in uno strato spesso. Leucociti polinucleati in numero poco, rilevante.

Esame isto-patologico del polmone: segni di broncopolmonite diffusa.

CASO 13°. — Coniglio n. 7356.

Viene inoculato per via intraspinale all'altezza della colonna lombare senza la certezza di essere nello speco ma senza fare ulteriori tentativi perchè in casi consimili si era avuta una meningite purulenta (vedi casi 1° e 2°).

L'inoculazione è fatta con la solita quantità di virus. Il coniglio viene sacrificato dopo 15 giorni.

Reperto anatomo-patologico e isto-patologico, del midollo e dei polmoni: negativi.

CASO 14°. — Coniglio n. 9001.

Viene inoculato nello speco vertebrale all'altezza della colonna lombare 1/2 cc. di filtrato. Il coniglio viene sacrificato dopo 15 giorni. Col midollo viene preparata la poltiglia con la stessa tecnica adoperata per la preparazione del virus. Coi polmoni del coniglio e con 1/2 cc. di filtrato di essa viene inoculato per via intranasale un topolino. L'animale muore dopo 36 ore con note anatomo-patologiche nettissime di una broncopolmonite emorragica.

Reperto isto-patologico del midollo: tutta la superficie del midollo è ricoperta da uno strato abbastanza alto di linfociti frammisti di qualche raro leucocita polinucleato e a qualche globulo rosso. I vasi sono molto congesti. Si riscontra inoltre nell'interno del midollo per quanto si può osservare con i comuni metodi di colorazione una certa proliferazione di cellule gliali.

CONSIDERAZIONI SUI RISULTATI OTTENUTI.

Dei 14 casi studiati dunque, 2 (10° e 11°) sono serviti di controllo: uno con inoculazione nel midollo spinale del midollo di un altro coniglio sano, l'altro con il liquido nel quale veniva stemperata la poltiglia di polmone contenente il virus cioè con brodo e soluzione fisiologica a parti eguali. Altri 3 casi (4°, 5° e 13°) come si è detto, hanno dato risultato negativo; ma per essi non vi fu la certezza di essere entrati nello speco vertebrale; in altri due casi inoltre (1° e 2°) per le varie manipolazioni usate dato che l'inoculazione era stata indaginosa, si è avuto lo sviluppo di una meningite purulenta con focolai ascessuali nell'interno della sostanza nervosa. Per tutto ciò i risultati avuti sono da esaminarsi solo per i rimanenti 7 casi (3°, 6°, 7°, 8°, 9°, 12° e 14°). Nel caso 3° vi è stata una congestione meningea con probabile reazione gliale. Ad eccezione del caso 8° in cui si è osservato una meningite mista (il coniglio è morto dopo 26 ore), per gli altri casi nei quali l'assenza di una suppurazione ci ha dato la prova sicura dell'asepsi usata, si è avuto come risultato la pre-

senza di un essudato meningeo marcatamente emorragico unito con una forte quantità di elementi mononucleati e nettamente linfocitici. Anche nell'interno della sostanza midollare è stato possibile vedere sia pure in grado non molto accentuato, la reazione delle cellule avventiziali intorno ai piccoli vasi, con formazione di manicotti (vedi fig. 3). Tuttociò dimostra che lo stato infiammatorio delle meningi riscontrato è prevalentemente di tipo emorragico linfocitario e che esiste una compartecipazione della sostanza nervosa.

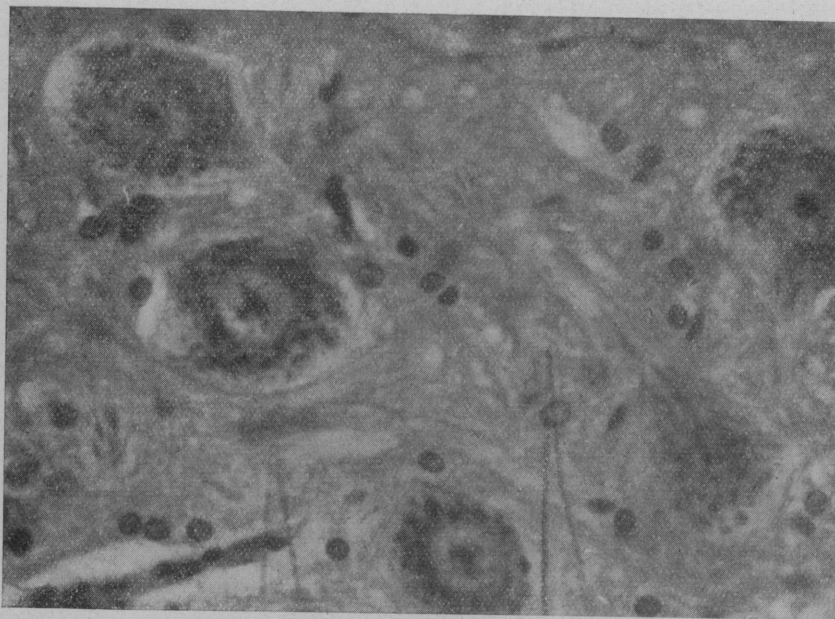


Fig. 3.

Coniglio n. 8001. — Manicotti perivasali.

Si può parlare perciò di una vera e propria meningite emorragica linfocitaria ed in alcuni casi di meningo-mielite. Poichè questo reperto collima con quanto si conosce nella letteratura sulla morfologia delle meningiti influenzali si può con ragione ritenere di essere riusciti a riprodurre nel coniglio questa forma per inoculazione di virus. Dev'essere inoltre segnalata la presenza di lesioni broncopneumoniche sia nei conigli inoculati per via endorachidea sia nei topolini che avevano ricevuto per via intranasale la pappa di midollo spinale di coniglio infetto. Ulteriori ricerche tenderanno ad accertare se tali lesioni siano riferibili al virus influenzale.

Si può dunque concludere che :

1) il virus influenzale trattato con accorgimenti tecnici su riferiti e iniettato direttamente nel midollo spinale provoca delle meningiti a tipo emorragico linfocitario e spesso anche delle mieliti.

2) Si verifica quasi sempre l'insorgenza di una polmonite.

RIASSUNTO

Con ricerche sperimentali su 14 conigli inoculati per via intramidollare con virus influenzale, l'A. ha ottenuto in vari casi un reperto di meningite emorragica linfocitaria e in altri casi focolai di mielite.

RÉSUMÉ

L'inoculation expérimentale du virus de l'influenza à 14 lapins, par la voie intra-médullaire, a permis à l'Auteur d'obtenir dans quelques cas un syndrome de méningite hémorragique lymphocytaire, et dans d'autres cas des foyers de myélite.

SUMMARY

By experiments on 14 rabbits subjected to intramedullary inoculations of influenza virus, the author has obtained hemorrhagic lymphocytary meningitis as a result in several cases, and myelitis foci in others.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch experimentelle Versuche an 14, auf intramidollärem Wege mit Influenzavirus geimpften, Kaninchen, erzielte Verf. in verschiedenen Fällen den Befund einer hämorrhagischen lymphocitären Meningitis, und in anderen Fällen Myelitis herde.

RESUMEN

Por medio de un estudio experimental hecho con 14 conejos inoculados por vía intramedular con el virus influenzal, el A. ha obtenido en varios casos un cuadro de meningitis hemorrágica linfocitaria y en otros casos focos de mielitis.

BIBLIOGRAFIA

- (1) DADDI e PANÀ. — « Annali dell'Ist. C. Forlanini », 1937, n. 6.
- (2) DADDI e PANÀ. — « Pathologica » 1937, XXIX, n. 547 ».
- (3) DADDI e PANÀ. — « Giorn. Batt. Immunol. » 1937, dicembre n. 6.
- (4) CERRUTI e DI AICHELBURG. — « Compt. Rend. Soc. Biol. » F. 126, 501, 1937.
- (5) LASZLO e NOWOTNY. — « Wien. klin. Wochschr. » 1936, n. 17.
- (6) STIEFLER. — « Wien. Klin. Wochschr. » 1920, p. 286.
- (7) PLATAU. — « Encephale » 24, 619, 660, 1929.
- (8) CROCHET e VERGER. — « Presse Médicale » 1926, p. 737.
- (9) SCHNEIDER. — « Wien. Klin. Wochschr. » 1935, S. 145.

58818

~~330011~~

