

## AISLAMIENTO DEL AGENTE CAUSAL DE UN SINDROME DE ENCEFALO PAPILITIS

*(Primer aislamiento del Virus de Coxsackie en la República Argentina)*

Por A. S. PARODI

En el año 1942 el Prof. Carrillo observó un cuadro clínico con síndrome de hipertensión endocraneana y edema de papila en el que se planteaba el diagnóstico diferencial con tumores cerebrales. En los primeros meses del año 1953 el Dr. Lorenzo Amezua envió material (materias fecales y líquido céfalo raquídeo y sangre) de una enferma con el citado síndrome. El aislamiento de un virus de materias fecales y L. C. R. y el aumento de anticuerpos neutralizantes en el período convalesciente permitieron certificar la relación causal de ese agente con la enfermedad padecida.

### MATERIAL Y METODOS

A) *Materias fecales.* — Fueron enviadas al laboratorio en un recipiente rodeado de hielo y sal. Una vez en este se guardaron en una heladera a  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

Se hizo una suspensión al 10 % en solución fisiológica y esta se centrifugó primero a 3.000 r.p.m. durante  $\frac{1}{2}$  hora. El sobrenadante fué centrifugado nuevamente a 17.000 g durante 1 hora. A este sobrenadante se le agregó penicilina y estreptomycinina en una concentración final de 500 unidades y 50 gammas respectivamente por centímetro cúbico. Una vez utilizada la cantidad necesaria, lo restante de la preparación fué ampollada y guardada a  $-76^{\circ}\text{C}$ .

B) *Líquido céfalo raquídeo.* — Fué también enviado en un recipiente refrigerado, luego ampollado y guardado a  $-76^{\circ}\text{C}$ .

Las inoculaciones fueron hechas a lauchas de 24 horas de edad. La primera por vía intracerebral, luego por vía intraperitoneal o subcutánea.

*Inoculación a laucha adulta.* — Se inocularon 10 lauchas de 30 días de edad por vía intracerebral.

Seis lauchas adultas fueron inoculadas con 5 mgrs de cortisona y 2 horas después con 0,5 mls de una suspensión al 10 % de virus que tenía un título de  $10^6$  D. L. M.

*Prueba de neutralización.* — Se recogieron muestras de sangre en período agudo y convaleciente. Una vez separados los sueros estos se guardaron también en la heladera de nieve carbónica.

La prueba de neutralización se hizo diluyendo el suero 1/10 y poniéndolo frente a iguales cantidades de diluciones crecientes de virus. Se dejó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora y se inocularon lauchas de 24 horas de edad. La inoculación fué hecha por vía intraperitoneal en dosis de 0,03 cc por cada laucha. Estas fueron observadas durante 15 días, anotando las parálisis y la mortalidad diariamente. Al cabo de ese tiempo los sobrevivientes fueron eliminados.

## RESULTADOS

### *Aislamiento del virus*

a) *Materias fecales.* — Estas fueron inoculadas por vía intracerebral a 5 lauchas de 24 horas de edad. A los 10 días una de ellas presentó signos evidentes de parálisis espástica de sus dos miembros posteriores y su desarrollo se había detenido en forma tal, que el peso era aproximadamente la mitad de sus hermanas, aparentemente sanas.

El pinzamiento de cola que provocaba en las sanas una reacción rápida de defensa y un grito característico, apenas si provocaba en la enferma con cierto retardo, algunas contorsiones de su cuerpo. El pelo que había crecido abundantemente en las otras, era en esta relegado como en una laucha de 2 ó 3 días de edad.

En el primer pasaje a partir de esta laucha enferma se utilizó solamente el cerebro en suspensión al 10 % en solución fisiológica pero posteriormente se utilizó todo el animal, salvo vísceras y piel.

En el segundo pasaje y a todas las lauchas inoculadas enfermaron a los 4 días y luego en los pasajes posteriores, se notaron signos de enfermedad a las 48-72 horas.

La muerte sobreviene a las 24-48 horas después de la aparición de la parálisis.

b) *Líquido céfalo raquídeo.* — La inoculación del líquido céfalo raquídeo provocó en una de las lauchas una ligera paresia y ataxia pero las manifestaciones típicas de la enfermedad se obtuvieron solamente al tercer pasaje.

*Prueba de neutralización.* — La prueba de neutralización cuyo resultado se muestra en el cuadro 1, establece un aumento significativo en el título de anticuerpos durante la convalecencia de la enfermedad.

*Inoculación a laucha adulta.* — La inoculación intracerebral a lauchas de 30 días de edad provocó en una de ellas la parálisis de una mano a los 10 días. No se intentó el pasaje. De las lauchas de 15 gramos de peso que habían recibido cortisona previamente, 2 paralizaron a los 10 días. Los controles permanecieron bien.

#### PRUEBA DE NEUTRALIZACION

Lauchas de 24 horas de edad. Inoculadas con 0,05 ml por vía peritoneal.  
Dilución final del suero 1/20.

C U A D R O 1

Suero del enfermo diluido 1/10 ...	Virus aislado				
	Concentraciones				
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>
Período agudo .....	5/5*	5/5	5/5	5/5	2/5
Período convalecencia .....	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Sol. Fisiol. ....	5/5	5/5	5/5	5/5	2/5

Los numeradores indican el número de lauchas muertas y el denominador el de laucha inoculada.

#### DISCUSION

La sintomatología de la laucha enferma nos hizo pensar inmediatamente que se trataba de un virus de Coxsackie. El aislamiento a partir de líquido céfalo raquídeo constituyó una sorpresa puesto que no se registra en la literatura. Sin embargo, la posterior comprobación de este hecho en otro caso, la anatomía patológica que luego se expone y el conjunto de las características de la enfermedad de las lauchas lactantes que hemos descrito nos hizo afirmar en el primer diagnóstico de virus de Coxsackie.

La relación causal del virus aislado con la encéfalo papilitis ha sido probado por su aislamiento a partir de líquido céfalo raquídeo

y el aumento de anticuerpos neutralizantes durante la convalecencia de la enfermedad. Pero aún antes de haber comprobado este último hecho, es decir, el aumento de anticuerpos, tuvimos la casi certeza de su vinculación con el síndrome descripto.

En efecto entre los signos y síntomas notados en los distintos cuadros clínicos vinculados con este virus, tanto en hombre como en animales, notamos la frecuente participación de trastornos oculares; molestias en los ojos <sup>(1)</sup> y diplegias <sup>(2)</sup> en el hombre, conjuntivitis <sup>(3)</sup> y edemas de párpados <sup>(4)</sup> en los animales.

Además el edema parece ser un signo general, pues se ha observado en el tejido subcutáneo de la lucha, con líquido en pleura y peritoneo del mismo animal, causado todo probablemente por un descenso de las proteínas sanguíneas.

No hemos podido hacer la clasificación antigénica del virus aislado por carecer de las cepas tipos aisladas en otros laboratorios. Actualmente hay ya 16 virus de Coxsackie antigénicamente distintos. En cuanto a la clasificación hecha por Dalldorf <sup>(5)</sup> sobre bases anatomo-patológicas ha sido criticada por Melnick <sup>(6)</sup> con fundadas razones.

Dalldorf divide los virus en dos grandes grupos el A que produce lesiones predominantemente musculares y el B que producen lesiones viscerales y en el sistema nervioso central. Como hace notar Melnick, las lesiones varían según la edad del animal y la vía de inoculación. No hay además una diferencia neta entre ellos sino una escala de transiciones y es difícil, en algunos casos llegar a una clasificación correcta. Los estudios anatomo patológicos en colaboración con el Dr. Prado y el análisis antigénico nos permitirán en un futuro cercano la exacta colocación de este virus dentro de la sistemática de los virus Coxsackie.

## CONCLUSIONES

De un caso de encéfalo papilitis se ha aislado un virus de Coxsackie a partir de materias fecales y líquido céfalo raquídeo.

Se ha probado un aumento de anticuerpos neutralizantes en la convalecencia de la enfermedad.

Los ratones blancos adultos inoculados con el virus y certisona son susceptibles a su acción patógena.

El aislamiento del virus líquido céfalo raquídeo y el aumento de anticuerpos en la convalecencia hace afirmar una relación causal entre este virus y el síndrome de encefalo papilitis.

### RESUMEN

El virus de Coxsackie ha sido aislado en un caso de nuevo síndrome neurológico descrito por el Prof. Ramón Carrillo y su vinculación con la enfermedad ha sido determinada por un aumento de los anticuerpos neutralizantes en el período de convalecencia. El cuadro clínico se caracterizaba por signos de hipertensión endocraneana y edema de papila que regresan espontáneamente. El virus fué aislado de materias fecales y líquido céfalo raquídeo.

### SUMMARY

The Coxsackie virus has been isolated from a case of a new neurologic syndrome, described by Profesor Ramón Carrillo, and its relation to the illness has been determined by the neutralizing antibodies in the convalescence stage.

The virus was isolated from excrete and from the-spila fluid.

The clinic picture is characterized by symptoms of endocranial hypertention and papillary edemas which vanishes spontanecusly.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1) CURNEN, E. E. — *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1950, 26, 335.
- 2) GALPINE, J. F. — *Lancet*, 1953, 1, 372.
- 3) KILBOURNE, E. D. — *Horsfall, F. L. (Jr), Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1951, 77, 135.
- 4) PAPPENHEIMER, A. M., KUNZ, L. J., SHEILA RICHARDSON, J. — *Exp. Med.*, 1951, 94, 45.
- 5) DALLDORFF, G. — *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 1950, 26, 329.
- 6) MELNICK, J. L. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1953, 56, 587.
- 7) PARODI, A. S., próxima publicarse.