

Descripción de un virus aislado a partir de un enfermo de neumonía atípica primitiva.

(Virus Et. *)

I. Caracteres generales

Por ARNALDO FIORINI * *

Durante el primer semestre del año 1944 se hicieron intentos tendientes a aislar el agente causal de algunas N. A. P. ^(1, 2), que demostraban ser producidas por un virus filtrable, descartándose psitacosis al no dar las reacciones suerológicas correspondientes. Utilizando gárgaras y esputos de uno de los pacientes fué posible aislar un virus morfológicamente similar a los del grupo psitacosis linfogranuloma venéreo. Este aislamiento se obtuvo dos veces más a partir de material humano, procediendo en todos los casos del mismo modo.

AISLAMIENTO DEL VIRUS

Las primeras tentativas fueron las de rutina, es decir la simple inoculación del material, gárgaras y esputos suspendidos en caldo, en ratón blanco, por las vías nasal e intraperitoneal. También se inocularon cricetos con resultados en ambos casos negativos. Se trató entonces de reproducir en cierto modo las experiencias de Rose y Molloy ⁽³⁾, quienes a partir de once pacientes de N. A. P. lograron aislar de siete de ellos, un agente filtrable, no corpuscular por inoculación en cobayos recién destetados. Fué así como la instilación del material en cobayo mamón dió al tercer pasaje lesiones de carácter neumónico, diseminadas, de color rosado, tamaño de 3 a 5 mm. llegando una a 1 cm., y de contornos bien precisos, las cuales en los pasajes siguientes, se hicieron grises. El pasaje a ratón partiendo de pulmón de cobayo dió resultados irregulares. El criceto dió en cambio lesiones de consolidación pulmonar. El pasaje a criceto se obtuvo a partir del octavo pasaje de cobayo, y ya en el primero dió lesiones rojizas en ambos pulmones, que en los siguientes se hicieron tipo hepatización gris y bien firmes.

* Virus aislado por Parodi, A. S. y Vilches, A. M., y comunicado a la sesión del Instituto el día 21 de diciembre de 1948.

** De la Sección Virus del Instituto Bacteriológico "Malbrán". Sec. de Salud Pública.

Partiendo de este último material se logró adaptarlo rápidamente a pulmón de ratón. En todos los casos el material era perfectamente estéril, haciéndose los cultivos de rigor para aerobios y anaerobios. En el suero del enfermo extraído dos meses después de la infección no se comprobó la presencia de anticuerpos fijadores de complemento ni neutralizadores para el virus aislado. Con el objeto de ver si no era un virus latente del cobayo, activado por los pasajes sucesivos, se hicieron pasajes seriados de pulmón sin lograr aislar elemento alguno. Debemos decir que la reacción de aglutininas de frío fué positiva en el enfermo ⁽⁴⁾.

CULTIVO

Según técnica de Cox ⁽⁵⁾ se hizo cultivo en yema de embrión de pollo incubado cinco días a 39°C., lográndose cultivar fácilmente el virus en la membrana vitelina, donde se lo halla en abundancia a los siete u ocho días de la inoculación.

MORFOLOGÍA

Es un virus corpuscular, es decir visible microscópicamente como pequeños corpusculitos de aproximadamente 200 uu. en los frotis e impresiones de pulmón de ratón coloreados por el método de Giemsa lento. Se lo halla en el citoplasma de las células alveolares donde es posible observar los diversos estados de su multiplicación. En las primeras etapas se nota una especie de cuerpo único (Fig. 1), que luego toma el aspecto de una morula (Fig. 2), para finalmente fragmentarse en corpúsculos elementales (Fig. 3). En los dos últimos estados se los ve en medio de una zona hialina, como tabicada y que parece ser el sustratum indispensable para la reproducción del virus. Por ruptura de las células quedan en libertad y de ahí que se los encuentre fuera de ellas. Muy raras veces se encuentran algunos en grandes mononucleares. En los frotis de saco vitelino son mucho más numerosos y dan la impresión de ser algo más pequeños.

TÍTULO

Los títulos obtenidos en la lucha han sido generalmente de 10^5 y excepcionalmente de 10^6 , tomando como valor la dilución que mata a la mitad del número de lauchas, continuando las observaciones hasta los 20 días. Desde su aislamiento hasta ahora se han hecho 35 pasajes por laucha sin que haya disminuído su título o modificado algunas de sus propiedades.

PATOGENICIDAD

Es patógeno para laucha, ericeto y cobayo por vía intranasal. Las lauchas mueren al tercero o cuarto día, algunas veces al segundo, pero en estos últimos casos se comprobó siempre infección sobreagregada. En grandes diluciones retarda su acción hasta el 20° día. En ratón se ha probado su inocuidad por las vías peritoneal y subcutánea. La inoculación intraperitoneal e intracerebral no tiene efecto sobre ericeto y cobayo.

TROPISMOS

Como los virus corpusculares se diferencian entre sí: 1º, por la neutralización de su acción tóxica por sueros inmunes, y 2º, por sus tropismos, y siendo el primer método muy complicado y cuidadoso, preferimos hacer la diferenciación utilizando el segundo, sin perjuicio de volver a analizarla luego por otros métodos. A ese efecto se inocularon lauchas por vía intracerebral, intraperitoneal e intranasal.

A los animales de vía cerebral se les extrajo el cerebro a los dos, cuatro y ocho días. Se hizo suspensión de ellos en caldo y se inocularon animales por vía nasal, haciéndose pasajes seriados de pulmón; el resultado fué negativo.

A los inoculados en peritoneo se les extrajo hígado y bazo, procediéndose como en el caso anterior, el resultado fué también negativo.

A los de vía intranasal se les extrajo bazo e hígado al cuarto día, haciéndose pasajes por vía intranasal a ratón, haciéndose luego pasaje seriado de pulmón sin lograr recuperar el virus. Como conclusión tenemos que no se ha podido comprobar neurotropismo ni viscerotropismo; y que el virus parece ser estrictamente neumótrofo.

ANATOMÍA PATOLÓGICA EN RATÓN

En los ratones inoculados por vía intranasal se producen zonas de condensación de color rosado primero, que después se hacen francamente grisáceas, comenzando en general por el hilio para extenderse después y abarcar todo el campo de ambos pulmones. Microscópicamente se ve una alveolitis con infiltración predominantemente monocitaria. Las células alveolares muestran una degeneración vacuolar del citoplasma muy intensa.

ACCIÓN DE LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

El éter al 10 % inactiva el virus a las 48 horas, pero no al 5 %.

El formol actuando 48 horas dió como resultado que a una concentración de 1/1000 inactiva el virus, 1/4000 disminuye sensiblemente su acción patógena, 1/8000 apenas si la modifica.

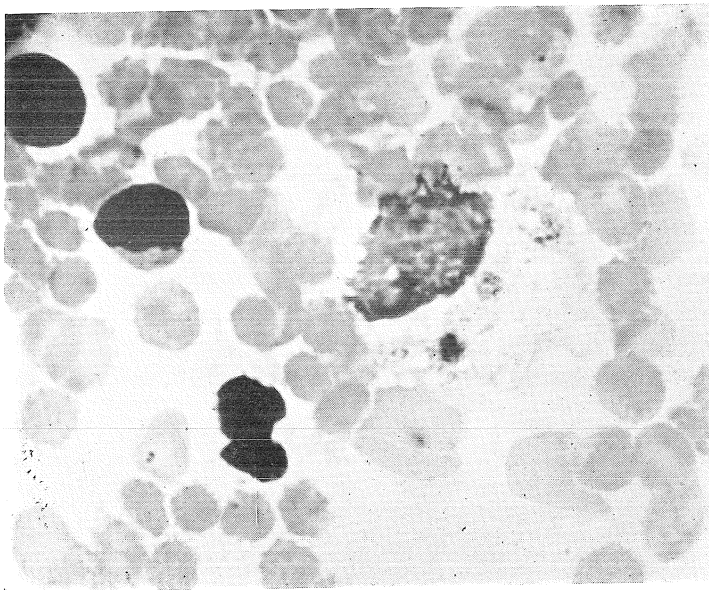


FIG. 1.

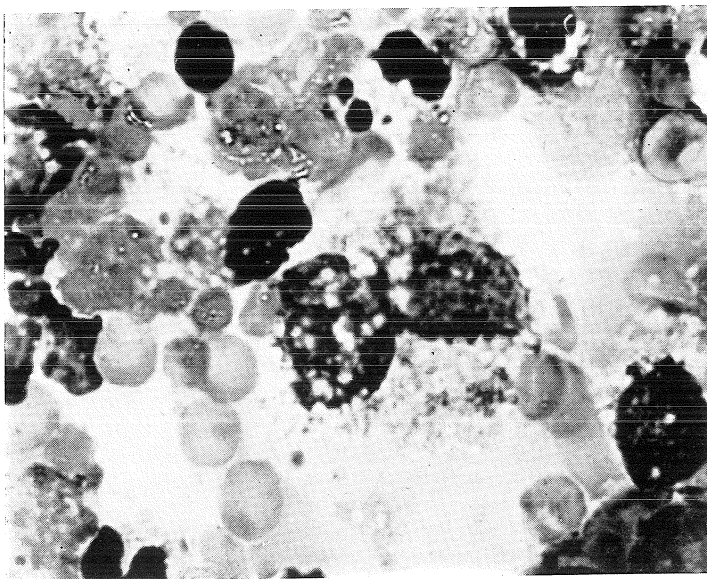


FIG. 2.

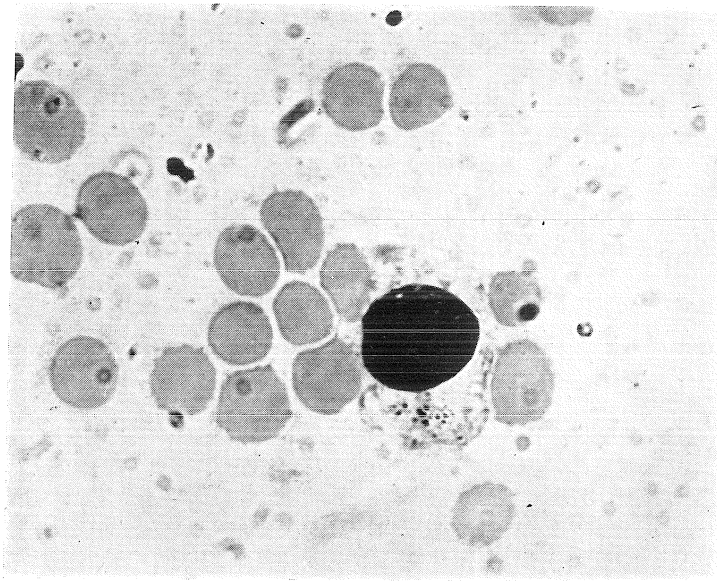


FIG. 3.

Es inactivado por alcohol al 30 % pero no al 10 %, actuando 48 horas.

El virus es sensible a la acción del calor, siendo inactivado después de estar 24 horas a 37°C., ó 20 minutos a 56°C., ó 10 minutos a 80°C. En cambio su acción patógena no es destruída después de mantenerlo una hora a 37°C.

Se conserva durante cuatro años como mínimo, a 76°C. bajo cero.

CENTRIFUGACIÓN

La suspensión de virus fué centrifugada, el sedimento disuelto al mismo volumen en caldo y fisiológica, haciéndose inoculación de grupos de 10 lauchas para verificar la presencia del virus. Así se vió que a 5000 r. p. m. ($\pm$ 2600 g), no es sedimentado, mientras que sí lo es a 15.000 r. p. m. ($\pm$ 14.000 g) durante una hora.

INMUNIDAD

Si bien las experiencias de inmunidad no están concluídas y serán objeto de un trabajo posterior, los primeros resultados parecen indicar que antigenéticamente no está relacionado con los componentes del grupo psitacosis-linfogranuloma venéreo.

DIFERENCIACIÓN CON OTROS VIRUS

A partir de los experimentos sobre tropismos y patogenicidad, podemos hacer la diferenciación con los otros virus corpusculares, patógenos (psitacosis, ornitosis y cepa S-F de Eaton) ⁽⁶⁾, y no patógeno para el hombre (Nigg) ⁽⁷⁾, Francis ⁽⁸⁾, Baker ⁽⁹⁾, X-12 ⁽¹⁰⁾. Los caracteres que lo individualizan son: 1º, su estricto neumotropismo; 2º, su infectividad exclusiva por vía nasal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1º A partir de gárgaras y esputos de un paciente de neumonía atípica primitiva se aisló tres veces por pasaje a cobayo mamón y de éste a criceto y luego a laucha, un virus morfológicamente similar a los del grupo psitacosis-linfogranuloma-venéreo.

2º Nos falta realizar las pruebas de inmunidad, y los tests cutáneos en enfermos de N. A. P. para poder decir que el virus aislado sea el agente etiológico de la misma.

3º No se descarta la posibilidad de que sea un virus latente del cobayo mamón activado por los pasajes sucesivos; lo que parece probable por la falta de anticuerpos neutralizantes en el suero del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) CALLEGAR, J. R.: *J. Biol. and Med.*, 1934, 7, 23 (citado por Campbell).
- (2) PARODI, A. S., VILCHES, A. M.: *Medicina*, 1944, 4, 310.
- (3) ROSE, H. M., MOLLOY, E.: *Science*, 1943, 98, 112.
- (4) VILCHES, A. M., PARODI, A. S., ETCHEVERRY, A. O.: *R. I. Bact.*, 1944, 12, 309.
- (5) COX, H. R.: *Science*, 1941, 94, 309.
- (6) EATON, M. D., BECK, C. K., PEARSON, H. E.: *J. Exp. Med.*, 1941, 73, 641.
- (7) NIGG, C., EATON, M. D.: *J. Exp. Med.*, 1944, 79, 497.
- (8) FRANCIS, T., MAGILL, T. P.: *J. Exp. Med.*, 1948, 68, 148.
- (9) BAKER, J. A.: *Science*, 1942, 20, 405.
- (10) CHIALVO, R. J., SÁENZ, A. C., PARODI, A. S., VILCHES, A. M.: *Rev. de Med. y Ciencias Afines*, 1947, 9, 1.