

Catedra de microbiologie și inframicrobiologie (cond. J. László șef de lucrări), Catedra de epidemiologie (cond.: prof. L. Boer), Laboratorul de virologie (cond.: prof. V. Vendég) și Clinica de boli infecto-contagioase (cond.: prof. L. Kelemen) ale I.M.F. din Tg. Mureș

CERCETĂRI EXPERIMENTALE IN HEPATITA EPIDEMICĂ

(Notă preliminară)

J. László, S. Abrahám, M. Péter, E. Kiss, L. Domokos, Margit Makai, Eva Szentkirályi, F. Kovács

Incertitudinea care domină în domeniul diagnosticului etiologic al hepatitei epidemice (h. e.) îngreunează într-o măsură extrem de mare elaborarea unei metode de laborator corespunzătoare.

Lucrările lui Șt. S. Nicolau (1, 2, 3) arată că lipsa unei metode de laborator specifice și corespunzătoare se datorește variației virusului hepatitei. Eforturile îndreptate spre diagnosticul de laborator și etiologia h. e. se reflectă în numeroase date din literatură. Dintre acestea amintim pe cele mai cunoscute, și anume lucrările lui: Șt. S. Nicolau (1, 2, 3), W. Siede (4), V. Essen (5), Benda și colab. (6), Verlinde și Boer (7), K. A. Primavesi (8), Sanders, Seret și Padson (9), Dick, Niven și Gledhill (10), Subladze, Ananie (11), Idanov (12), Grau, Molinier, Baudy și Garnier (13), Gaidamovici (14), O. Mitroiu și Predovicu (15), N. Cajal și colab. (16), Kasza, Palencsár și Makai (17), M. D. A. Aleinik și Z. E. Taraniuk (18), Reptoh și Primavesi (19), Segagni, Ansaldo și Nigro (20) și D. B. Golubev (21).

Cercetările noastre au urmărit elaborarea unei metode apte pentru diagnosticul specific al h. e. În acest scop am efectuat:

1. examenul histopatologic al ficatului rozătoarelor inoculate intrahepatic cu materiale hepatitice, (sînge, fecale, urină);
2. examenul histopatologic al ficatului hamsterilor inoculați cu lichidul unor culturi de celule hepatice infectate cu materiale hepatitice, (umane, embrionare);
3. examenul ficatului embrionilor de găină inoculați cu materiale hepatitice;
4. probe de hemaglutinare și fixare a complementului cu serul bolnavilor de hepatită și al oamenilor sănătoși;
5. examenul florei intestinale a bolnavilor de hepatită.

Rezultate:

1. Dintre rozătoarele utilizate ca animale de experiență, numai în ficatul hamsterului (*Cricetus auratus*), am găsit modificări patologice, care au lipsit la animalele martori. Aceste modificări au constat în infiltrații perivasculare, infiltrații în parenchimul hepatic și în teritoriile periportale. După 8 săptămâni de la inoculare, în teritoriile periportale, s-a observat o pronunțată proliferare celulară și între lobuli au pătruns elemente conjunctive. În afară de aceasta, s-a observat vacuolizarea celulelor hepatice, nuclei monstroși, anozocarie, picnoză și necroză celulară izolată. În preparatele colorate după metoda *Mann* nu au fost puse în evidență incluzii intracelulare. La hamsteri valoarea transaminazei, după 6 săptămâni de la inoculare, a fost de două ori mai mare decât cea normală (41—60 U.). În ficatul șoarecilor, șobolanilor și cobailor inoculați intrahepatic cu materiale patologice nu am reușit să provocăm modificări asemănătoare celor observate la hamsteri și nu am găsit nici incluzii. Valorile transaminazei au oscilat între limite normale. La iepuri aceste valori au arătat o creștere lentă, după 6 săptămâni de la inoculare.

2. În culturile de celule hepatice umane infectate cu materiale hepatice nu am observat modificări caracteristice. În schimb cu lichidul culturilor de țesut am izbutit să producem în ficatul hamsterilor leziuni care corespund celor descrise la punctul 1. Lichidul de cultură de țesut normal nu a provocat leziuni în ficatul hamsterilor.

3. În ficatul embrionilor de găină de 10—12 zile, inoculați cu materiale hepatice și cu culturi de țesut infectate, am putut provoca leziuni hepatice grave, dar numai la 10% din animalele de experiență. În cursul experiențelor noastre efectuate timp de mai mulți ani nu am reușit să confirmăm receptivitatea embrionului de găină față de agentul patogen. În schimb alți autori ca *Replow* și *Primavesi*, *Segagni*, *Ansaldi* și *Nigro* (19, 20) consideră că embrionul de găină este apt ca animal de experiență pentru cercetările în legătură cu hepatita.

4. Serul sanguin prelevat în faza inițială a bolii, cu hematii aviare tripsinizate a dat o reacție de hemaglutinare pozitivă în 88—90% a cazurilor. La persoanele sănătoase nu am întâlnit hemaglutinare pozitivă decât în 1%, la un titru scăzut. Intrucît serul oamenilor sănătoși nu aglutinează hematii aviare tripsinizate, credem că acest test prezintă destulă siguranță în diagnosticul h. e. Evident că înainte de a fi introdus definitiv ca procedeu de diagnostic al h. e., această probă trebuie efectuată și cu serul sanguin al oamenilor suferind de alte boli.

Proba de fixare a complementului efectuată cu serurile de mai sus a dat rezultate diferite de cele de hemaglutinare: numai în 22,3% a cazurilor am obținut valori pozitive. Considerăm pozitivă proba de fixare a complementului obținută în cazul unor diluții ale serului de peste 1/4. Ca antigen am utilizat lichid amniotic de embrion de găină și culturi de celule hepatice umane infectate. Serurile persoanelor sănătoase nu au dat în nici un caz o reacție pozitivă de fixare a complementului.

5. Examinînd flora bacteriană a fecalelor bolnavilor de hepatită, din 108 cazuri, în 50% am izolat tulpini de *E. coli* care au arătat o hemoliză de tip beta, morfologic s-au comportat ca *E. coli* dar cu serurile de coli curențe nu au dat aglutinare decât în cîteva cazuri. La aceste tulpini aglutinarea spontană este frecventă. Examenul lor este în curs.

Concluzii:

În această notă preliminară relatăm rezultatele obținute în cursul experiențelor noastre efectuate timp de 4 ani.

1. După inocularea intrahepatică cu materiale hepatice în ficatul hamsterilor apar modificări patologice care lipsesc la animalele sănătoase adică la cele neinfectate.

2. Dintre procedeele de cultură de țesut, cultura de celule hepatice embrionare umane este aptă mai ales pentru prepararea antigenului, după infectarea cu materiale hepatice; agentul infecțios nu a avut efect citopatogen.

3. În ficatul embrionilor de găină inoculați cu materiale hepatice, am pus în evidență modificări patologice numai în 10% a cazurilor.

4. Reacția de hemaglutinare efectuată cu hematii aviare tripsinizate a dat

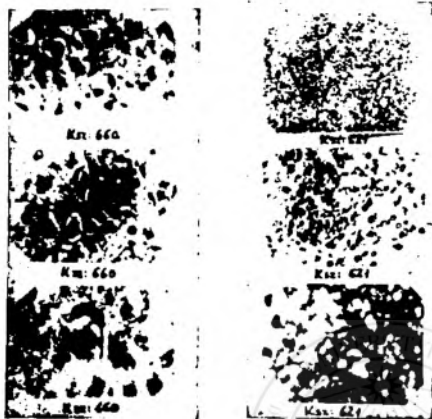


Fig. nr. 1. - Ficatul animalelor inoculate cu ser hepatitic. (Ob. 10 x, Oc. 10 x.)



Fig. nr. 2. - Ficatul animalelor inoculate cu culturi de țesut infectate cu materiale hepatitice. (Ob. 10 x, Oc. 10 x.)



Fig. nr. 3. - Ficat inoculat cu culturi de țesut normal. (Ob. 10 x, Oc. 10 x.)



Fig. nr. 4. - Ficatul hamsterilor inoculați cu materiale hepatitice la 2 luni după inoculare. Formare de țesut conjunctiv. (Ob. 10 x, Oc. 10 x.)

pozitivitate în 88—90% din bolnavii de hepatită, în timp ce la persoanele sănătoase și la alți bolnavi această proporție a fost de 1%. Proba de fixare a complementului a fost pozitivă în 22,5% la un titru peste 1/4.

5. Se pare că în cursul examinării fecalelor prelevate în faza inițială a hepatitei se pun în evidență în 50% a cazurilor tulpini bacteriene care deși aparțin unei grupe de *E. coli* se deosebesc de acestea. Studiarea acestor tulpini este în curs.

Sosit la redacție: 13 mai 1961.

Bibliografie

1. ȘT. S. NICOLAU: Hepatitele infecțioase inframicrobiene. Edit. Academiei (1957);
2. ȘT. S. NICOLAU: Microbiol., parazit., epidem. (1960) 2, 109—120; 3. ȘT. S. NICOLAU: Studii și cerc. de inframicrob. (1959) T. X. 4. 529—537; 4. W. SIEDE: Virushepatitis und Foigezustände. Ambrosius Verlag Leipzig. II. Aufl. (1958); 5. V. ESSEN: Deutsch. Arch. f. Imm. Med. (1949) T. 195.280; 6. L. BENDA, F. GERLACH, E. KISSEL, H. THALER: Deutsch. Arch. f. Ges. Virusforsch. (1949) Bd. IV. 90—117; 7. J. D. VERLINDE, H. D. BOËR: Arch. f. Ges. Virusforsch. (1948) Bd. IV. H. 1. p. 1.; 8. K. A. PRIMAVESI: Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Kr. (1959) 145, 461—470; 9. M. SANDERS, M. SORET, E. PADSEN: St. și cerc. de Inframicrob. (1960) T. IX. 3. 481—482. Referat; 10. W. G. DICK, G. S. NIVEN, A. W. GLEDHILL: British. Jour. Exp. Pat. (1956) 37, 90; 11. A. K. SUBLADZE, V. A. ANANIEV: Sovietskaia Med. 12, (1959) 44—49; 12. JDANOV: cit. Nicolau; 13. M. GRAU, A. MOLINIER, L. BAUDY, GARNIER: Sem. Hôp. (1960) 2, 90—97; 14. GAIDAMOVICI: Voprosi virusologii (1958) 5, 308—309; 15. O. MITROIU, F. PREDOVICIU, M. POPA: Microb., parazit., epidem. (1960) 2, 149—157; 16. N. CAJAL, V. BOERU, C. BABA, M. LEONESCU, V. TUDOR, S. LITMAN: St. și cerc. de inframicrob., microb., parazit. (1959) T. IX. I. p. 9; 17. KASZA L., PALENCAR A., MAKAI M.: Rev. Medicală (1960) 2, 179; 18. M. D. ALEINIK, Z. E. TARANIUK: Voprosi virusol. (1960) 1, 83—87; 19. H. REPLOH, K. A. PRIMAVESI: Deutsch. Med. Wochenschr. (1960) V. 85. 18. 801; 20. SEGAGNI, ANSALDI, NIGRO: Minerva Ped. Turin. 12. 11. (1960) 303—310; 21. B. D. GOLUBEV: Zsurnal. epid. imunol. (1959) 6, 128.