

Laboratorul de microbiologie și inframicrobiologie (cond.: conf. J. László)
și Clinica de pediatrie (cond.: prof. Gh. Puskás, doctor în științe medicale)
ale I.M.F. din Tg.-Mureș

DESPRE ETIOLOGIA VIROTICĂ A REUMATISMULUI ACUT (III STUDIUL PROPRIETĂȚILOR VIRUSURILOR IZOLATE)

Ă. *Abrahám*, *Monica Sabău*, *O. Nussbaum*, *Z. Papp*

În lucrările noastre anterioare (1, 2) am remarcat renumăratele ipoteze ale etio-patogeniei reumatismului acut, ipoteze, care nici pînă azi nu au fost verificate în practică prin reproducerea experimentală a nodulului reumatic descris de *Aschoff*, ca patognomonic în infecția reumatică.

Schlesinger și colab. (3) sînt printre primii care emit ipoteza etiologiei virotice a reumatismului acut. Astăzi, numărul susținătorilor acestei ipoteze a crescut. Cu toate acestea nu putem exclude ipoteza etiologiei streptococice a reumatismului acut, susținută de asemenea de un număr din ce în ce mai mare de cercetători.

Zaleski și colab. (4) sînt aceia care încă în anul 1956 au izolat un virus din sîngele bolnavilor reumatici, care a fost reizolat și după infectarea iepurilor. *Surin* (5), reluînd experiențele cu aceleași metode, ajunge la rezultate negative. Totuși *Dreizin* și colab. (6) susțin experiența lui *Zaleski* și reușesc să fotografieze corpusculii elementari ai reumatismului, avînd o mărime de 150—180 milimi-

croni. În anul 1961, *Marcenko* și colab. (7) izolează din singele bolnavilor reumatici atât streptococul cit și virusul APC.

În lucrările noastre am căutat să aducem o contribuție la etiologia virotică a reumatismului acut, fără a putea însă exclude participarea directă sau indirectă a streptococului.

Am izolat 6 tulpini de virusuri de la un număr de 35 de copii bolnavi de reumatism acut, denumite de Dreizin virusuri „R”. Trebuie să arătăm de la început, că metodele indicate de Dreizin nu au dus la rezultate pozitive. Menționăm că virusurile „R” nu au putut fi izolate de la copiii sănătoși, sau suferind de alte boli.

Material și metodă

Pentru izolarea virusului „R” ne-am folosit de lichid cefalorahidian (l.c.r.), de sînge total și uncori de spălătură nazofaringiană (s.n.f.). Produsele le-am introdus în culturi de celule după o prealabilă pregătire cu adăos de antibiotice.

Am folosit următoarele culturi de celule:

I. Culturi de celule primare: cord embrionar uman (CEU), celule embrionare de ficat (CEF) și celule embrionare umane totale (EU).

II. Linii celulare: CM (cord maimuță, tulpină SCH, Salk), Detroit₆, (Berman), HEP₂ (Toolan), HeLa (Gey), KB (Eagle), Rin (rinichi embrion uman).

Toate tulpinile au fost cultivate în același mediu de creștere: Hanks-Eagle în părți egale, hidrolizat de lactalbumină, glutamină, antibiotice, vitamine și ser de vițel (2).

Cu fiecare material patogen am infectat mai multe tuburi cu un adăos de mediu La Ye pe care le-am urmărit zilnic, timp de 7 zile. Dacă nu s-a produs efectul citopatogen (ECP) am trecut la următorul pasaj. ECP — produs s-a manifestat după 24 sau 72 de ore de la infecție. În acest caz am menținut culturile în stare congelată, pînă la infectarea următorului pasaj.

Rezultate

Virusurile „R” izolate din l.c.r. al bolnavilor cu reumatism acut, în culturile de celule s-au comportat mai mult sau mai puțin identic. Virusurile „R” se dezvoltă în culturi primare embrionare umane (CEU, EUF., EU.) producînd ECP încă în primul pasaj, menținîndu-și această proprietate și în pasajul X.

În cazul celulelor de tip epitelial, virusurile se comportă diferit; în celulele HeLa nu produc efect citopatogen; în celulele KB, HEP₂, D₆ și Rin, ECP este instabil, uneori chiar dubios. Astfel în unele pasaje ECP este net, în altele lipsește sau este dubios. În celulele D₆, HEP₂ și Rin începînd cu pasajul al VII-lea, ECP este net. Este vorba de acomodarea virusului la celule sau de dezvoltarea lui latentă. În celulele KB, nici după pasajul VII nu se observă ECP net. Linia celulară CM este susceptibilă pentru virusurile „R” încă de la primele pasaje, iar ECP se menține și în pasajul X.

Efectul citopatogen produs în primele zile (24—48 de ore) după infecție, diferă de la un virus la altul. Virusul denumit de noi „R₃” formează întii sinciții sau celule gigante multinucleate. După 48 respectiv 72 de ore începe degenerarea celulelor, care se rotunjesc, iar mai tîrziu se dezlipesc de pe pereții tuburilor.

Tulpina denumită de noi „R₁₉” nu formează sinciții nici celule gigante, după 24 ore de la infecție celulele se rotunjesc și la 48—72 ore se dezlipesc în placarde, (fig. 1—2).

Din mediul de cultură care prezenta ECP am reușit să punem în evidență aceiași corpusculi elementari (cu mărimea de 120—180 milimicroni) care au fost descriși într-o lucrare anterioară și care proveneau direct din l.c.r. (1).

Izolarea virusului „R” din sînge total sau spălătură nazofaringiană nu ne-a reușit în nici un caz, cu toate că am folosit metoda descrisă de *Zallesski* (4).

Virusurile „R” rezistă la temperatura camerei cîteva ore, se inactivează repede la 56°, dar sînt rezistente la -10°, păstrîndu-și infecțiozitatea timp de cîteva luni.

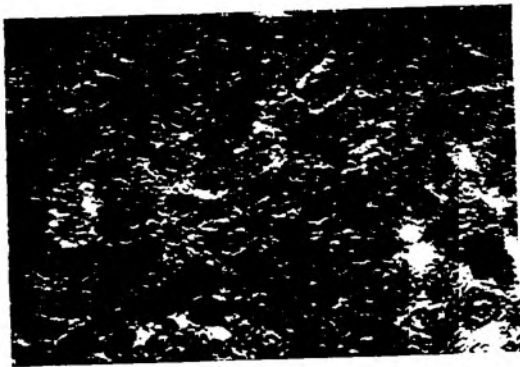


Fig. nr. 1.

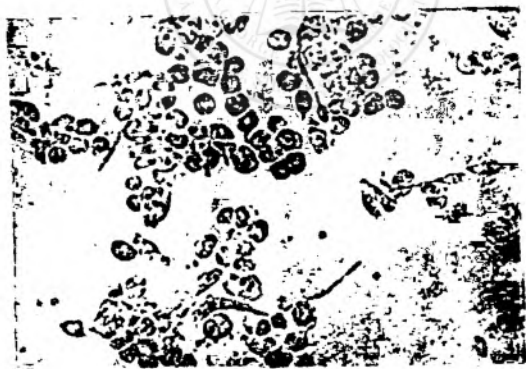


Fig. nr. 2.

Virusurile sînt rezistente față de eter; fenolul și formolul le inactivează repede. Nu aglutinează eritrocitele de găină, șobolan, cobai, iepure și berbec. Nu îmbolnăvesc șoriceii nou-născuți, șoarecii, șobolanii, cobaii și iepurii. Nu sînt neutralizate de serurile anti-Coxsackie A₁-₁₉, B₁-₅, poliomielitice I, II și III.

Discuții

Rezultatele lui Zelasski și colab. (4) obținute prin izolarea virusurilor „R” din singele total al reumaticilor nu le-am putut reproduce. De altfel, la același rezultat negativ a ajuns și Surin (5).

Lichidul cefalorahidian recoltat în primele zile ale bolii este materialul patologic apt pentru izolarea virusului „R”. Virusurile nu se comportă la fel în toate culturile de celule. Credem că este vorba de o grupă de virusuri „R” și antigenul de grup produce efectele citopatogene comune atât la celulele CM cît și la celelalte culturi enumerate. Faptul că uneori obținem, în pasajul II al unei culturi, rezultate negative, iar în pasajul următor iarăși pozitive, nu înseamnă că virusul a dispărut sau nu este prezent. În acest timp virusul se află în formă mascată — inaparentă. Faptul a fost demonstrat în cazul virusurilor Coxsackie A₄, cînd unul dintre noi a observat acest fenomen: inoculînd mediul la șoriceii nou-născuți, aceștia paralizînd. Toate virusurile „R” izolate de noi au aceleași proprietăți fizico-chimice. Totuși neutralizarea încrucișată cu ser omolog ne arată că virusurile mai posedă și un alt antigen de „tip”, ceea ce ne face să vorbim de o grupă a virusurilor „R”.

Concluzii

Prin izolarea și cercetarea caracterelor virusurilor „R” la bolnavii cu reumatism acut (copii), am căutat să aducem o contribuție la etiologia virotică a reumatismului acut, dar nu putem nega nici participarea directă sau indirectă a streptococului. Virusurile „R” se multiplică și produc ECP în celulele primare embrionare umane și în special în celulele CM; efectul este instabil în celulele D₈, HEp₂, KB și absent în celulele HeLa. Serul bolnavului neutralizează virusul izolat la un titru mai ridicat decît serurile recoltate de la alți bolnavi reumatici, fapt care pledează pentru posibilitatea existenței unui grup de virusuri „R”.

Sosit la redacție: 19 iulie 1964.

Bibliografie

1. ABRAHĂM A., FILEP GY., NUSSBAUM O.: Simposion de reumatologie, Tg.-Mureș, 1961; 2. ABRAHĂM A., PAPP Z.: Rev. Med. (1963), 3, 296; 3. SCHLESINGER: Lancet (1935), 1, 1145; 4. ZALESSKI și colab.: Terap. Arch. (1959), 5; 5. SURIN: Voprosi Virusol. (1961), 3, 273; 6. DREIZIN și colab.: Vopr. Virusol. (1961), 5, 21; 7. MARCENKO și colab.: Vopr. Virusol. (1962), 4, 78;