

Disciplina de microbiologie stomatologică (cond.: șef de lucrări Al. Á-abám, doctor în medicină), a I.M.F. Tîrgu Mureș și Clinica de boli infecțioase din Tîrgu Mureș (cond.: prof. L. Kelemen, doctor-docent)

IZOLAREA VIRUSULUI GRIPAL A: (HONG-KONG) LA TÎRGU MUREȘ*

dr. Al. Ábrahám, G. Filep, dr. A. Nagy

Circulația virusului gripal în natură oferă posibilitatea variabilității sale, care se manifestă prin schimbarea unor caractere ce duc în cele din urmă la apariția unui nou tip, cu antigenitate diferită față de cel inițial. Tipurile de virus gripal din grupa A (A₀—A₁—A₂) au fost izolate în cursul mai multor epidemii, perioade în care virusul de origine și-a schimbat caracterele antigenice. Acestei variabilități naturale ale virusului gripal i se datorește ivirea unui nou tip de virus, cu un comportament cu totul diferit față de cele cunoscute pînă în prezent; îmbolnăvește marea majoritate a populației, iar simptomele bolii se manifestă diferențiat în funcție de vîrstă.

* Comunicat la ședința U.S.S.M., Filiala Tîrgu Mureș, secția patologie infecțioasă, din 29 mai 1969.

În cursul anului 1968, OMS (11) a luat cunoștință de declanșarea unei epidemii de gripă la Hong-Kong cu caracter de pandemie. Noua tulpină de virus gripal izolată de Chang, virologist desemnat de OMS pentru această regiune, s-a dovedit a fi diferită de cele cunoscute pînă în prezent, dîndu-i-se ulterior denumirea de A₂ (Hong-Kong)/1968. Centrele mondiale de gripă au raportat lipsa anticorpilor specifici din serul bolnavilor față de acest nou tip de virus gripal. S-a evidențiat faptul că persoanele care anterior au fost atinse de virusul gripal A₂, nu mai posedă imunitate suficientă pentru o completă protecție împotriva noului virus, iar vaccinurile actuale nu conferă imunitate.

La Hong-Kong, epidemia din a doua parte a lunii iulie a cuprins o jumătate de milion de persoane. A atins Singapurul, Taiwanul, Malaya, Vietnamul și insulele Filipine. În septembrie, infecțiile au apărut la Madras, Bombay, în Iran, Tailandă și partea de nord a Australiei. După ce populația din Japonia a fost de asemenea afectată, viroza s-a răspîndit în S.U.A. de unde a trecut în Europa atîngînd mai întîi Italia, Germania, unele părți ale Scandinaviei și vestul U.R.S.S.-ului. În iarna și primăvara anului 1969, pandemia s-a răspîndit și în alte țări din centrul Europei iar în luna aprilie a cuprins și populația țării noastre.

Primele cazuri de gripă în orașul nostru au fost semnalate la începutul lunii aprilie. Simptomele au pledat în favoarea toxicității (cefalee, febră, adinamie marcată, mialgie pronunțată) cu manifestări minime ale căilor respiratorii superioare. La aproximativ 25% a bolnavilor vîrstnici, simptomele gripale au fost atît de neînsemnate încît nu au necesitat tratament. În perioada pandemiei, au fost internați cu complicații un număr de 376 de bolnavi, iar 150 din lipsă de spațiu au fost tratați ambulator. La majoritatea acestora, complicațiile au fost bronhopneumonie, bronhiolită, traheobronșită și pneumonie lobară. Într-un singur caz s-a constatat otită medie purulentă. Complicații nervoase nu s-au găsit.

Referitor la asociațiile bacteriene, trebuie să menționăm că deși majoritatea cercetătorilor, în pandemia de gripă din anii 1957 și 1962 au incriminat stafilococii, noi în aceste epidemii am găsit predominant Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae și Streptococcus haemolyticus. În complicațiile gripale din acest an a predominat în general Klebsiella pneumoniae.

Gripa a afectat în genere vîrstnicii cu boli cronice (cardiace, pulmonare). Din numărul de internați în clinica noastră au decedat în urma epidemiei 14 bolnavi, adică 4,02%.

Material și metodă

Pentru izolarea virusului, am recoltat materialul patologic din nazo-faringele bolnavilor în primele 24—48 de ore. Aceasta s-a făcut cu un tampon faringian care a fost descărcat în mediu Hanks, bogat în antibiotice. După centrifugare, supernatantul a fost inoculat sub ovoscop pe cale amniotică la ou embrionat de găină. Ouăle au fost menținute 48 de ore la 35° C, după care 6 ore la +4° C, iar ulterior s-a recoltat lichidul amnio-alantoidian.

Pentru reacțiile serologice am folosit hematii de cocoș (0,5%), seruri standard anti-virus gripal A₂ (England)/12/64; B. (Romania)/1/63; A₂(Hong-Kong)/1/68, precum și antigene gripale A₂, B cu antetele de mai sus, toate livrate de Institutul Dr. I. Cantacuzino din București. Investigații serologice s-au făcut și prin determinarea nivelului de anticorpi HAI din serul bolnavilor față de antigenele de mai sus și față de virusul izolat de noi.

Acest virus a fost trecut din 2 în 2 zile pe ou embrionat de găină, prin metoda uzuală, obținîndu-se pînă în prezent XV pasaje succesive. Între pasaje s-a determinat titrul HA al virusului, pentru a verifica prezența acestuia, respectiv creșterea titrului. După pasajul X am început adaptarea virusului la plămîn de șoarece, prin instilarea intranasală a acestuia și pasaje oarbe cu emulsie de plămîn.

AI. ABRAHAM ȘI COLAB: IZOLAREA VIRUSULUI GRIPAL A₂ (HONG-KONG)
LA TIRGU MUREȘ

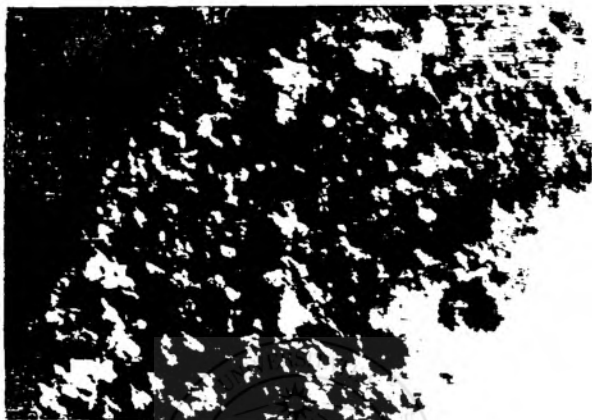
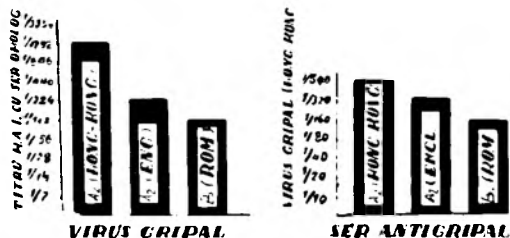


Fig. nr. 1: Virus gripal adsorbit pe hematii.
Mărire 27.000 X

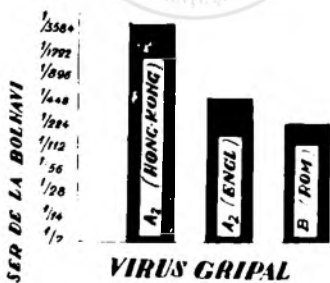


Fig. nr. 2: Virus gripal, particule elementare.
Mărire 27.000 X.

AL. ABRAHAM ȘI COLAB.: IZOLAREA VIRUSULUI GRIPAL A₂ (HONG-KONG)
LA TIRGU MUREȘ



Graficul nr. 1



Graficul nr. 2

În scopul verificării aspectului morfologic al virusului izolat pe ou embrionat de găină, virusul a fost purificat prin adsorbție-eluție pe hematii de cocos (4, 5), după care s-a reabsorbit pe hematii lizate sau s-a centrifugat la 105.000'g și fotografiat la microscopul electronic (Tesla BS 242 A).

Rezultate

În primul pasaj pe ou embrionat de găină, virusul a prezentat un titru HA de 1/8. În pasajul următor titrul a crescut la 1/128 ajungând în pasajul XII la 1/1024.

Reacția de HAI cu serul test antivirus gripal A₂ a fost de 1/160, iar serul antivirus gripal B de 1/80. Acest fapt, indică un virus cu antigenitate variată față de cele cunoscute pînă în prezent, mai ales datorită faptului că serurile omoloage au prezentat un titru HAI = 1/1792, în timp ce față de virusurile standarde titrurile au fost mult inferioare: A₂:HAI = 1/224; B:HAI = 1/122. Ulterior am verificat reacția de HAI și față de serul test antivirus gripal A₂ (Hong-Kong) 1/68, care ne-a dat un titru HAI = 1/640 față de virusul izolat de noi (grafic nr. I și II).

Comparînd titrurile de anticorpi hemaglutinoinhibanți din serurile bolnavilor de gripă din această pandemie, am remarcat următoarele rezultate: față de virusul A₂ (England 12/64) acesta a fost în medie de 1/224 (maximul fiind de 1/448, minimul de 1/28), față de virusul B (România 1/63) titrul mediu a fost de 1/122 (maximul de 1/224 și minimul de 1/14), pe cînd față de virusul izolat de noi, titrul mediu a fost de 1/896 (maximul de 1/3584 și minimul de 1/56).

Virusul nou, purificat și adsorbit pe hematii lizate de cocos la microscopul electronic s-a prezentat sub formă de corpusculi elementari rotunzi sau ovalari dispuși izolați sau în grămezi (fig. 1), pe cînd în sedimentul ultracentrifugării s-a dispus mai mult în conglomerate, formate din corpusculi elementari mici, rotunzi (fig. 2). În plămînul de șoarece pînă în pasajul V nu am decelat nici o modificare patologică, cercetările fiind în curs.

Discuții și concluzii

Marile pandemii gripale au provocat îmbolnăvirea milioanei de oameni. Pandemia din acest an nu s-a dovedit a fi cu nimic mai îngăduitoare, deși cazurile de deces au fost mai rare și au fost afectați mai mult vîrstnicii cu boli cronice. Mult discutata problemă a rezervorului de virus între epidemii — ipoteză animală —, deci faptul că ele trecînd pe gazde animale s-ar modifica transformîndu-se în virusuri „mascate” sau „oculte”, cu posibilitatea ca în anumite împrejurări să-și recapete puterea de infectivitate, să se răspîndească în masa umană și să determine îmbolnăviri sporadice, epidemii sau chiar pandemii, nu a fost încă unanim acceptată (6). Supravegherea dinamicii profilului imunologic al populației face posibilă o previziune științifică asupra apariției, și în special, a amplexării unei eventuale epidemii de gripă (2). În acest sens s-a verificat prezența anticorpilor antigripali în masa populației (7), arătîndu-se că virusul gripal A(PR₈)/34 și-a încetat existența în urmă cu aproximativ 23 de ani, în ultimii ani circulînd varianta A₂ (România/65), iar virusul gripal B(Lee/40) și-a încetat activitatea în urmă cu aproximativ 25 de ani, circulînd în anii din urmă varianta B(România/63).

În pandemia de gripă din anul 1957 s-au făcut nenumărate investigații, izolîndu-se tipul A₂ (Asia/57), față de care în multe țări s-au găsit titruri de anticorpi mult mai ridicate decît față de virusurile gripale din circulația trecută (1, 10).

Privind epidemia de gripă „B” din februarie—martie 1966, în București, se precizează (3) că aceasta a evoluat în condițiile unei circulații reduse a virusului A₂ spre deosebire de primăvara anului 1964, când cele două tipuri de virus gripal au circulat concomitent. S-a constatat în continuare că circulația permanentă a virusului B precede și succede izbucnirile de gripă A₂ (8). Ca urmare, în anii 1967/68 studiul serologic și virusologic a pus în evidență prezența virusului A₂ (9). S-a prevăzut că populația din țara noastră prezintă un fond important de imunitate antigripală și că tulpinile de virus gripal autohton, care circulă, nu mai pot provoca epidemii masive. Există însă posibilitatea ca tulpinile de virus gripal circulante, ca urmare a fenomenului de variabilitate ce le este caracteristic, să dea naștere la noi variante epidemice (7), previziune concretizată în actuala pandemie.

Legătura ecologică între virusul izolat de noi A₂ (Hong-Kong, 1/68) și boala gripală, se manifestă prin existența anticorpilor HAI față de acest virus în serurile omoloage, perum și în serurile bolnavilor internați în spital cu fenomene de complicație gripală. Ridicarea în dinamică a titrurilor de anticorpi HAI de peste 4 ori față de noul virus, demonstrează clar relația dintre noul virus și boală. Serul test antivirus gripal A₂ (Hong-Kong 1/68) a inhibat reacția de HA pînă la un titru de 1 640, titru mult mai ridicat decît cele obținute cu seruri test antivirus gripal A₂ și B. Acest fapt ne îndreptățește să considerăm virusul izolat de noi ca fiind noul virus de tip A₂ (Hong-Kong 1/68), care a afectat populația orașului nostru în primăvara acestui an.

Virusul a fost adaptat pe ou embrionat de găină, unde i-a crescut în permanență titrul HA (1/8—1/1024). Totuși, titrul relativ scăzut și evoluția în general ușoară a bolii — cu excepția vîrstnicilor cu afecțiuni cronice — ne îndreptățește să considerăm virusul cu o patogenitate și virulență relativ mai scăzută decît cel din pandemie anulul 1957. S-ar putea ca virusul izolat de noi, de la Hong-Kong și pînă la noi să-și fi schimbat caracterul domesticindu-se, fapt care a dus la declanșarea unor îmbolnăviri mai ușoare cu mai puține decese. Cercetările ulterioare vor fi menite să verifice starea de imunitate a populației prin extinderea reacțiilor HAI pe scară largă aplicată la toate vîrstele.

Sosit la redacție: 17 iunie 1969.

Bibliografie

1. ABRAHAM S., LÁSZLÓ I., KISS E., BOTH J., PÉTER M., DOMOKOS L.: Rev. Med. (1961), 1, 59; 2. CALOMFIRESCU AL., DOBRESER AL., SOLOMON I., POPESCU ANA: Șt. cerc. inframicrobiol. (1968), 19, 2, 91; 3. CAZACU E., BUSUIOC CARMEN, STOICESCU ATENA, CAZACU B., IONESCU VALERIA: Șt. cerc. inframicrobiol. (1967), 18, 5, 377; 4. HORNE R. W., WATERSON A. P., WILDY P., FARNHAM A. E.: Virology (1960), 11, 2, 79; 5. HOYLE L., HORNE R. W., WATERSON A. P.: Virology (1961), 13, 4, 448; 6. IVAN A.: Microbiologia (1968), 5, 401; 7. IVAN A., VANCEA GEORGETA, BURGOVAN LUCIA, ZVORISTEANU VIRGINIA, UNGUREANU ELENA, VASILOVICI OLIMPIA: Șt. cerc. inframicrobiol. (1968), 19, 3, 177; 8. IVAN I. M., BUSUIOC CARMEN, CAZACU E., STOICESCU ATENA, IONESCU VALERIA, CAZACU B.: Șt. cerc. inframicrobiol. (1968), 19, 3, 183; 9. MOISA I. BRONIŢKI AL., POPESCU ANA, MARINESCU G., MARIAN A.: Șt. cerc. inframicrobiol. (1969), 20, 2, 99; 10. ZHDANOV V. M.: Bull. Org. Mond. Santé (1959), 20, 11, 489; 11. * * * Chr. OMS. Le virus de Hong-Kong. (1968), 22, 12, 586.