

IZOLAREA VIRUSULUI COXSACKIE DIN CAZURI DE HERPANGINA

Vendég Vince, Abrahám Sándor

În ultimii ani s-au publicat multe articole privind tablourile clinice produse de virusul Cocksackie, totuși acestea nu au ajuns să fie îndeajuns cunoscute în practica medicală. Deși unele dintre tablourile clinice cauzate de virusul Cocksackie sînt simptomatice caracteristice ca de exemplu herpangina, durerea localizată pe partea cranială a abdomenului respectiv stern, pleurodinia, slăbirea dureroasă a extremităților, mialgia, etc., ele nu sînt întotdeauna diagnosticate de medicul practician. Herpangina, caracterizată prin apariția aftelor pe mucozitățile buco-faringiene pe bază iperemică este luată drept o amigdalită banală. În cazul gripei de vară și toamnă care se caracterizează printr-o stare febrilă de cîteva zile și apare mai ales la persoane tinere asociată cu dureri de cap, dureri abdominale, medicii se gîndesc rar la o infecție a virusului Cocksackie.

Recunoașterea virozei Cocksackie este importantă din punct de vedere practic pentru faptul că tablourile clinice produse de această viroză precedează pe de o parte epidemiile poliomielitice, pe de altă parte produce de cele mai multe ori o imunitate față de ea.

Răspîndirea largă a virusului Cocksackie reiese din faptul că după cîțiva ani de la descoperirea lui, a fost izolat aproape în toate țările. Așa de exemplu și în Republica Populară Romînă, în decursul a cîteva

ani s-a ajuns la izolarea mai multor tulpini în diferite regiuni (Ploești, Iași, Oradea, București). Tulpinile izolate în aceste localități provin din fecalele persoanelor poliomielitice sau suspecte de această boală.

Izolarea virusului Coxsackie s-a efectuat — în general atît în cazurile citate în bibliografie cît și la noi în țară — din cazuri poliomielitice sau suspecte de această boală. În cele ce urmează, descriem izolarea virusului Coxsackie din cazuri de herpangină cu simptome febrile. Iată cîteva din cazurile noastre:

1. Bărbat de 28 ani, stare febrilă de 3 zile pînă la 39° C. În ziua a 3-a apar erupțiile bucale. Pe mucoasele bucale, sublinguale, vestibulum oris se observă afte în număr considerabil avînd mărimea unor boabe de mei-linte, regulat rotunde, cu un diametru iperemic de 1 mm. Pe mucozitățile faringiene nu se constată prezența aftelor.

2. Fetiță de 2 ani. Stare febrilă pînă la 39° C de 3 zile. Este trimisă de medicul consultant cu diagnosticul de tonsilită foliculară. Pe ambele arcuri anterioare ale amigdalelor se observă prezența unor ulcerării superficiale rotunde, de mărimea unui bob de linte, înconjurate de o arie iperemică.

3. Băiat de 4 ani. Febricitează de 2 zile (38° C). Medicul consultant îl trimite cu diagnosticul de amigdalită. Pe arcurile anterioare ale amigdalelor, pe limbă și mucoasele bucale constatăm apariția unor afte de mărimea unui bob de mei-linte înconjurate de o arie iperemică.

4. Femeie de 30 ani. Este bolnavă de 4 zile fără febră, avînd doar dureri de gît. Pe ambele arcuri se observă ulcerării superficiale rotunde în parte izolate, pe de altă parte confluențe.

5. Băiat de 2 ani din Clinica infantilă. I s-a pus diagnosticul stomatită, encefalită. Medicul neurolog, este de părere că bolnavul ar fi suspect de encefalită transmisă prin lapte de capră. În vestibulul oris se observă afte în parte de forme ovale, în parte rotunde. Pe arcurile faringiene lipsesc aftele.

6. Bărbat de 72 ani. Este transportat la Clinica neurologică în stare comatoasă. Pe arcurile faringiene sînt ulcerării superficiale mărunte. Prezintă o rigiditate a cefei. Analizele lichidului cefalo-rahidian sînt negative.

7. Femeie de 25 ani, bolnavă de 5 zile. În tabloul clinic predomină gingivita. Pe mucoasele bucale sînt cîteva afte mai mici decît bobul de mei, avînd o arie iperemică. Arcurile faringiene sînt lipsite de afte.

8. Fată de 12 ani. Este sub tratament cu aureomicină de 3 săptămîni. Pe arcurile anterioare ale amigdalelor se găsesc afte de mărimea unui bob de mazăre, așezate simetric. Cel de pe arcul amigdalei drepte se vindecă cu cicatrizare. Cu 3 zile în urmă au apărut afte pe mucoasa bucală și pe limbă.

9. Fetiță de 3 ani. Febricitează de 3 zile. Pe limbă, mucoasele sublinguale-bucale, vîlul palatin, apar afte de mărimea unor boabe de linte, cu o arie iperemică. Pe arcuri nu se remarcă leziuni.

10. Băiat de 12 ani. Prezintă stare febrilă de 6 zile (39—40° C). Pe arcurile faringiene apar afte de mărimea unui bob de linte; pe mucoasa bucală vîlul palatin și limbă, aftele de mărimea unor boabe de mei-linte sînt numeroase și înconjurate cu o arie iperemică. Are simptome accentuate în deglutiție; nu mîncă de cîteva zile; expirația îi miroase a acetonă.

Învieea bolilor descrise s-a produs în lunile următoare: cazurile 1, 2 și 3 în luna aprilie, 4 în mai, 5—6 în iunie, 7—8 în iulie, 9 în august, și 10 în octombrie.

Materialul necesar cultivării virusului l-am obținut în urma badijonnării straturilor superficiale ale aftelor de pe mucoasele buco-faringiene cu un tampon steril imbibat cu ser fiziologic. Tamponul a fost introdus într-o cantitate mică (1 ml) de ser fiziologic, centrifugat cu tură mică.

Supernatantul a fost tratat cu antibiotice (pt. 1 ml lichid 2000 UI penicilină și 10 mg streptomicină). Cu materialul astfel preparat, am inoculat pe cale subcutanată șoricei nou născuți.

Cu materialul provenit de la bolnavii enumerați am inoculat — după posibilități — mai multe familii de șoareci. Într-o familie am păstrat în general 4—5 șoricei nou născuți; în cazul cînd familia era mai numeroasă am redus numărul membrilor la 4—5.

Cu materialul cazului nr. 2 (Mv_1) am inoculat pentru început 8 șoricei nou născuți. Paraliza primului animal s-a produs în a 3-a zi de la inoculare; pînă în ziua a 6-a toate animalele inoculate au paralizat, respectiv au pierit la cîteva ore după paralizie. Cu diluția 1:10 a emulsiei membrilor de șoriceș paralizat (cu adăugarea antibioticelor necesare) am efectuat pasaje oarbe pe șoricei nou născuți. În cazurile pasajelor ulterioare, totdeauna am observat ivirea paraliziiilor respectiv moartea animalelor de experiență.

Timpul de incubație a virusului în cazul primului pasaj era de 3—6 zile, timp care în pasajele ulterioare s-a redus treptat; astfel animalele inoculate în pasajul IV. au paralizat și au pierit 100% la 3 zile după infecție.

Șoriceii nou născuți infectați cu filtratul abacterian (Seitz) a emulsiei mușchilor de șoriceș paralizați, au dat paraliza mai sus descrisă și au murit după o incubație de 3—6 zile.

Tulpina a doua de virus Cocksackie Mv_2 am obținut-o din cazul nr. 3. Proprietățile acestui virus au fost identice cu ale virusului obținut din cazul nr. 2.

A treia tulpină de virus Cocksackie Mv_3 a fost obținută din cazul nr. 3. Timpul de incubație al acestui virus în primul pasaj a fost de 5 zile și a scăzut gradat în cursul pasajelor ulterioare. Astfel în pasajul IV. timpul de incubație a ajuns la 3 zile. Simptomele paralizice ale șoriceșilor inoculați cu acest virus Mv_3 a fost diferit de cele descrise pînă acum. În cazul virusurilor Mv_1 și Mv_2 animalele au făcut paraliza membrelor posterioare și abia mai tîrziu ale celor anterioare (fig. 1). Animalele inoculate cu virusul Mv_3 au făcut mai întîi paraliza membrelor anterioare. În ziua 5—6 de la infecție șoriceșii nou născuți și-au mai mișcat membrele posterioare, pe cînd cele anterioare paralizate au fost strîns lipite de urechi („stare de salutare” — fig. nr. 2). După paraliza ambelor membre anterioare a început paraliza celor posterioare după care animalele au pierit și în acest caz 100%.

Filtratul abacterian al acestui material a fost găsit la fel de transmisibil prin pasaje, altor grupe de șoriceș.

Virusul nr. 4 (Mv_4) a fost izolat din cazul nr. 10. Proprietățile virusului Cocksackie Mv_4 au fost identice cu ale virusului Mv_1 și Mv_2 .

Inoculînd materialele recoltate de la bolnavi — și care au dat paraliza șoriceșilor nou născuți — pe cale subcutană la șoareci maturi, ei au supraviețuit regulat boala. Faptul că virusul Cocksackie se înmulțește și în șoareci maturi se poate documenta pe scurt prin cele ce urmează:

1. Virusul Cocksackie fiind pasat din 7 în 7 zile de la șoareci maturi în șoareci de aceeași vîrstă, la 6—7 zile de la infecție virusul se poate

retransmite pe șoareci nou născuți chiar dintr-al IV—V-lea pasaj, producând în mod regulat paralizia acestora.

2. Animalele mature trecute prin infecția virusului *Coxsackie la 4—5 săptămâni fiind reinfectate, virusul nu mai poate fi readus de la astfel de animale mature pe șoareci nou născuți.

Virusul Coxsackie adaptat la șoareci nou născuți produce paralizia șoarecilor mai în vîrstă. Astfel de ex. virusul Coxsackie provenit din pasajul VII—IX și inoculat fiind șoarecilor de 14—16 grame pe cale subcutanată, produce paralizia, respectiv moartea lor în proporție de 100%.

Titrul virusurilor Coxsackie izolate de noi îl redăm în tabelul Nr. I. și II.

Virusul Coxsackie Mv_1

TABELUL I.

Diluția virus	Nr. animalelor inoculate	Nr. animalelor paralizate-moarte	Incubația în zile	Timpul pieirii în zile
10^{-3}	4	4	3	3
10^{-4}	5	5	3	3
10^{-5}	5	5	3	3
10^{-6}	5	3	4—5	5—6
10^{-7}	5	0	0	0
10^{-8}	5	0	0	0

Virusul Coxsackie Mv_2

TABELUL II.

Diluția virus	Nr. animalelor inoculate	Nr. animalelor paralizate-moarte	Incubația în zile	Timpul pieirii în zile
10^{-2}	5	5	5	5
10^{-3}	4	4	6	6
10^{-4}	4	4	6	6
10^{-5}	4	4	6	6
10^{-6}	5	5	6—8	6—8
10^{-7}	5	0	0	0
10^{-8}	5	0	0	0

Cercetări de neutralizare a virusului

Pentru neutralizarea virusurilor am întrebuițat serul bolnavilor recoltat în a 16 și a 32-a zi a bolii. Pentru acest fapt am amestecat cantități asemănătoare ale virusului de 50 DL_{50} (1:5000) cu diferitele diluții ale serului reconvalescent. După 2 ore am luat din fiecare amestec și am inoculat pe cale subcutană șoarecii nou născuți; astfel fiecare animal a fost infectat cu 100 DL_{50} de virus. Controlul a constatat din infectarea animalelor asemănătoare cu 100 DL_{50} virus neneutralizat în prealabil.

Rezultatele sînt arătate în tabelul nr. III.



TABELUL III.

Ser nr. I.					Ser nr. II.				
Diluția serului	Serul tip	50DL ₅₀ virus	Nr. animalelor infect.	Nr. animalelor paralizate	Diluția serului	Serul tip	50DL ₅₀ virus	Nr. animalelor infectate	Nr. animalelor paralizate
10 ⁻¹	Mv ₁	Mv ₁	6	0	10 ⁻¹	Mv ₁	Mv ₁	5	0
10 ⁻²	Mv ₁	Mv ₁	5	5	10 ⁻²	Mv ₁	Mv ₁	5	0
10 ⁻³	Mv ₁	Mv ₁	7	7	10 ⁻³	Mv ₁	Mv ₁	6	1
10 ⁻¹	Mv ₂	Mv ₂	5	3	10 ⁻¹	Mv ₂	Mv ₂	6	0
10 ⁻²	Mv ₂	Mv ₂	5	5	10 ⁻²	Mv ₂	Mv ₂	7	0
10 ⁻³	Mv ₂	Mv ₂	6	6	10 ⁻³	Mv ₂	Mv ₂	6	0
10 ⁻¹	Mv ₃	Mv ₃	5	0	10 ⁻¹	Mv ₃	Mv ₃	5	0
10 ⁻²	Mv ₃	Mv ₃	6	6	10 ⁻²	Mv ₃	Mv ₃	7	0
10 ⁻³	Mv ₃	Mv ₃	6	6	10 ⁻³	Mv ₃	Mv ₃	5	0
10 ⁻¹	Mv ₄	Mv ₄	5	0	10 ⁻¹	Mv ₄	Mv ₄	6	0
10 ⁻²	Mv ₄	Mv ₄	5	5	10 ⁻²	Mv ₄	Mv ₄	5	0
10 ⁻³	Mv ₄	Mv ₄	6	6	10 ⁻³	Mv ₄	Mv ₄	5	0

Cercetări histologice

Țesutul mușchiului striat al animalelor paralizate este caracterizat printr-o degenerescență pronunțată. Aspectul striat al fibrelor mușchiulare dispare, în unele locuri observându-se doar sporadic. În jurul fibrelor distruse apar celule noi care în majoritatea lor provin din disocierea nucleilor de sarcolema, pe de altă parte din invadarea celulelor mononucleare (fig. nr. 3). În țesutul nervos și adipos al animalelor paralizate, nu se constată nici o schimbare evidentă.

Cultivarea virusului pe embrioni de găină:

Am încercat cultivarea tulpinilor de virus Cocksackie izolat de noi pe ou embrionat de găină de 8—10 zile. Pentru însămînțare am întrebuințat virusurile Cocksackie Mv₁ și Mv₃ provenite din pasajul IV. de animale în diluția 1:10, filtrat prealabil prin filtre abacteriene (Seitz). Pasajele oarbe pe ou embrionat au fost executate cu lichidul alantoidian prin adăugarea antibioticelor necesare. Însămînțarea s-a efectuat prin metoda Burnet. Pentru experiențe am întrebuințat câte 10 ouă embrionate de pasaj. Rezultatele obținute au fost următoarele: Dintre embrionii de găină însămînțați cu virusul Cocksackie Mv₁ au sucombat 2 după patru zile de la inoculare. Pe membrana chorio-alantoideană precum și pe tegumentul embrionilor s-au observat hemoragii punctiforme, 8 embrioni de găină au rămas în viață tot timpul observației.

Pasajul următor l-am efectuat cu diluția 1:10 a lichidului alantoidian. În ziua a 4-a au sucombat 3 embrioni. Pe membrana chorio-alantoidiană cît și pe embrioni leziunile au fost identice cu cele din pasajul precedent.

Embrionii pasajului III au supraviețuit infecția.

Dintre embrionii de găină însămînțați cu virusul Cocksackie Mv₃ au sucombat cinci în ziua a 5-a de la inoculare. Pe membrana chorio-

alantoidiană precum și pe embrioni s-au observat multe hemoragii punctiforme de diferite mărimi. Embrionii pasajelor următoare (II—III) au suferit.

Virusul Mv_1 a fost retransmis cu succes pe șoricei nou-născuți din pasajul II cu lichidul alantoidian.

Virusul Mv_3 a fost de asemenea transmisibil șoriceilor nou născuți din pasajul II a embrionilor de găină, cu ajutorul lichidului alantoidian. Timpul de incubație a virusului a fost de 4 zile. Inoculând 6 șoricei nou-născuți cu lichidul alantoidian al pasajului III, 3 animale au făcut paralizia în ziua a 5—6-a după infecție, celălalte animale au rămas în viață în decursul celor 2 săptămâni de observație.

Reacțiile de hemaglutinare :

Alături de materialul infecțios provenit de la bolnavi cît și cu lichidul alantoidian reacțiile de hemaglutinare efectuate cu hematii de berbec și găină au dat rezultate negative.

Discuția rezultatelor

Ulceratii superficiale de mărimea boabelor de mei-linte cu arii iperemice se observă relativ frecvent pe mucoasele buco-faringiene. Stomatita aftoasă se găsește des în copilărie cît și la oameni maturi. Izolarea virusului Cocksackie este posibilă în unele cazuri de stomatită aftoasă puerilă din a. n. cazuri de herpangine. Apariția caracteristică a formei clinice de herpangină constă din ulceratii superficiale ale mucoaselor buco-faringiene, de mărimea unui bob de linte (eventual ceva mai mare) regulat rotund, cu baza de culoare galben-marou. Aceste leziuni se găsesc în general, regulat pe arcurile anterioare, vîlul palatin, limbă și mucoasele bucale. Stomatita aftoasă în cazurile umane mature se deosebește de ulceratiile superficiale ale mucoaselor de herpangină puerilă prin faptul că ulceratiile mucoaselor în stomatita aftoasă matură, în majoritatea cazurilor, nu sînt regulate rotunde ci ovale, se găsesc mai mult pe mucoasele bucale și limbă, sînt în număr mai redus decît ulceratiile superficiale ale herpanginei.

Herpangina este boala caracteristică a lunilor de primăvară-vară și toamnă; iarna se observă foarte rar. Imbolnăvirea se manifestă cu regularitate prin febricitate (39—40°C) și dureri evidente în deglutiție. Febra se menține în cazul copiilor de 2—3 ani timp de 3—4 zile, la copiii mai în vîrstă, 6—8 zile. Din cauza deglutiției foarte dureroase copiii febrili mîncă foarte puțin, de aceea expirația lor are miros pronunțat de acetona.

Aureomicina este excelentă pentru scurtarea fazei febrile. Copiii tratați cu aureomicina chiar din ziua următoare devin cu regularitate afebrili, iar ulceratiile superficiale ale mucoaselor se vindecă la 1—2 zile de la începerea tratamentului.

În cazurile de herpangină nu am observat niciodată mialgii, pleurodinii, simptome meningeale respectiv paralizii, deci este evident că virusul Cocksackie produce asemenea simptome în alte cazuri. Tablourile

clinice de acest gen produse de virusul Coxsackie evoluează însă cu regularitate fără herpangină.

Pînă în prezent nu s-a clarificat relația dintre virusul Coxsackie și cel poliomielitc. Din numeroasele date ale literaturii contemporane se constată fără îndoială că virusul Coxsackie poate fi izolat într-un mare procentaj din cazurile de poliomielită. Proprietățile cele mai caracteristice ale virusului Coxsackie și ale poliomielitei (mărimea corpusculelor elementare, rezistența față de acțiunile externe) sînt asemănătoare. Relațiile dintre cele două virusuri sînt confirmate și prin observațiile unor autori (Wesenmajer 1938), conform cărora printre locuitorii care au trecut prin epidemii de mialgii nu sînt cazuri de poliomielită. După Dalldorf (1952) șoarecii infectați cu virusul poliomielitei de tip Lansing devin imuni față de virusul Coxsackie.

Concluzii

Izolarea virusului Coxsackie este posibilă din anumite cazuri de stomatită aftoasă puerilă — din cazuri febrile a. n. herpangine. Febra ridicată la copiii de 2—3 ani, ține 2—3 zile, la cei de 6—12 ani 6—7 zile. Ulcerațiile superficiale ale mucoaselor, în cazurile de herpangină sînt de mărimea unui bob de linte, cu regularitate de forma rotundă, în număr mare față de forma ovală și numărul mic al ulceratiilor superficiale ale mucoaselor din stomatita aftoasă matură.

Tratamentul cu aureomicină scurtează faza febrilă a bolii respectiv ulceratiile superficiale ale mucoaselor se vindecă repede.

Pentru izolarea virusului, am inoculat șoareci nou născuți cu materialul ulceratiilor superficiale ale mucoaselor. Animalele au paralizat respectiv au pierit după 3—6 zile de incubatie. Virusul a fost transmisibil șoricilor nou-născuți și prin filtratul abacterian. Serul reconvalescent a neutralizat virusul.

Inoculînd materialele provenite de la bolnavi șoarecilor maturi și executînd pasaje oarbe, animalele supraviețuiesc cu regularitate infecția; virusul readus de la animalele pasajelor III—IV la șoriceii nou-născuți, boala se manifestă cu simptomele caracteristice producînd paralizia și pierirea șoricilor.

Virusul adaptat la șoareci în decursul a VIII—IX pasaje, produce îmbolnăvirea tipică și moartea șoarecilor de 4—5 săptămîni.

Sosită la redacție: la 11 decembrie 1956.

ИЗОЛИРОВАНИЕ ВИРУСА СОХСАККИЕ ПРИ ГЕРПАНГИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

• В. Вэндэг, Ш. Абрахам

При герпангине поверхностные язвы слизистой имеют величину чечевичного зерна и правильную, круглую форму, тогда как афты взрослых бывают разной величины и имеют овальную форму. Вирус выявляется на афтах и стуле больных. Размножается он и на взрослых мышах, сохраняя свои патогенные свойства в отношении новорожденных мышат даже через III—V пассажа. Адаптированный на мышах вирус причиняет заболевание и гибель взрослых (4—5 недельных) мышей. Сыворотка реконвалесцентов нейтрализует вирус. При лечении больного Ауреомицином, сокращается лихорадочный период болезни. В нашей области вирус Coxsackie A встречается очень часто.

ISOLATION DU VIRUS COXSACKIE DANS LES CAS D'HERPANGINE

Vendég V., Abraham S.

Dans les cas d'angine herpétique (herpangine) les ulcérations superficielles des muqueuses ont la grandeur d'une lentille et sont de forme ronde de sorte qu'elles sont différentes des ulcères ovalaires de la stomatite aphteuse de l'adulte. Le virus Coxsackie peut être mis en évidence aussi bien dans le mucus des ulcères que dans les matières fécales des malades. Le virus inoculé à des animaux adultes (souris) maintient sa pathogénéité vis à vis des souris nouveau-nés même après le troisième ou quatrième passage. Le virus adapté aussi aux animaux, rend malade et tue les souris de 4—5 semaines. Le virus est neutralisé par le sérum de convalescents. L'administration d'auromycine raccourcit la phase fébrile de la maladie. Dans notre pays, la souche A du virus Coxsackie est la plus commune.