

EXAMENE VIROLOGICE ȘI BACTERIOLOGICE EFECTUATE ÎN CURSUL EPIDEMIEI DE GRIPĂ DIN ANUL 1959*

S. Abraham, J. László, E. Kiss, J. Both, M. Péter, L. Domokos

În anul 1954 a apărut o epidemie de gripă la Singapore și în insula Sumatra. Această epidemie s-a extins extrem de repede în toată lumea și în scurt timp milioane de oameni s-au îmbolnăvit. Boala a fost benignă având o evoluție mai ușoară decât în pandemia din 1919.

Observațiile arată că epidemiile de gripă se repetă la intervale de 2—4 ani. În 1953 epidemia de gripă a pornit din insula Guam situată în Oceanul Pacific, fiind urmată de epidemia amintită din 1957. Din punct de vedere al structurii antigenice a virusului, agentul patogen al bolii s-a deosebit de tipurile A, A₁, B, C și D cunoscute până acum. Noul tip a fost denumit A².

În mod cu totul surprinzător, în 1958 a apărut tot în Asia de sud-est o nouă epidemie care s-a extins repede, bîntuind în lunile de iarnă regiunile occidentale și răsăritene ale Europei. În luna ianuarie 1959 au fost semnalate și în țara noastră numeroase cazuri. În luna februarie numărul cazurilor a crescut brusc în toată țara iar intensitatea epidemiei nu scăzuse însă aproape de loc nici în cursul lunii martie. Examenul efectuat au demonstrat că pentru această epidemie trebuie incriminat virusul gripal A₂ cunoscut deja.

În cursul examinărilor noastre am cercetat proporția în care figurează virusul gripal în numărul mare al proceselor căilor respiratoare.

Tipul de virus a fost determinat:

- a) prin izolări de virus,
- b) cu metode serologice,
- c) prin inoculări pe animale.

Pentru izolarea și determinarea bacteriilor din căile respiratoare superioare am efectuat examene bacteriologice.

Material și metodă

În cursul cercetărilor noastre am examinat mai ales lichidul de spălătură nazo-faringiană. Prelevarea lui a fost efectuată potrivit unui procedeu precis determinat. Materialul examinat l-am prelevat în ziua internării bolnavului în spital, deci în faza inițială a bolii. (E vorba de spitalul temporar înființat în timpul epidemiei.)

În cursul examenelor noastre am aplicat următoarele metode:

1. Procedeu de hemoaglutinare a lui *Smorodincev-Drobisevscaia* (în cele ce urmează: reacția S. D.) pentru determinarea, punerea în evidență, adică tipizarea virusului în lichidul de spălătură faringiană.

2. Culturi de virus în cavitatea amniotică a oulului embrionat. Determinarea tipului de virus crescut în cultură pe bază inhibiției de hemoaglutinare cu seruri de tip standard.

3. Examenul virusurilor cu ajutorul inoculărilor pe animale. (șoareci, hamsteri).

1. Facem o scurtă descriere a procedurii de hemoaglutinare elaborat de A. A. Smorodincev și A. J. Drobisevscaia. Pentru cunoașterea amănunțelor tehnice de aplicare a acestui procedeu indicăm consultarea manualelor existente: (3).

Procedeu se execută în felul următor: cu lichidul de spălătură nazo-faringian în

* Lucrare prezentată la S. Ș. M. filiala Tg. Mureș la 25. VI. 1959.

cantitate de 50 ml prelevat de la bolnav în primele 3 zile ale bolii se face proba de hemoaglutinare cu filtrat de *salivat* în prezența serului imun.

Notă: în numeroase cazuri materialul studiat a fost prelevat de la bolnavii internați în clinică prezentând complicații astfel încât și diagnosticul etiologic a putut fi elucidat rareori.

În prezența virusului hemoaglutinarea se observă în eprubeta care nu conține ser, la fel ca și în eprubeta în care virusul nu a întâlnit un antigen neutralizant corespunzător. În prezența antigenului se produce inhibiția hemoaglutinării astfel încât și tipul de virus poate fi determinat.

Avantajele metodei sînt următoarele:

a) Metoda este mai sensibilă decît reacția clasică *Hirst* deoarece virusul gripal existent în faza O (originală) aglutinează intens hematule de cobai în timp ce pe cele aviare le aglutinează în mică măsură (1).

b) Virusurile prezente în filtratul lichidului de spălătură (10 ml) se leagă de hematule existente în cantitate mică producînd o aglutinare vizibilă cu ochiul liber. Sedimentarea hematiilor durează destul de mult (3—4 ore) fapt care asigură un timp corespunzător absorbției particulelor virale.

c) Procedul servește la determinarea directă a virusurilor.

În timpul epidemiei (de la 18. I. 1959—28. III. 1959) am examinat 252 de lichide de spălătură faringiană. Ne avînd la dispoziție ser de tip în cantitate suficientă, am procedat la modificarea reacției S. D. după cum urmează: mai întîi am efectuat hemoaglutinarea virală a lichidului și în cazurile pozitive am executat separat reacția S. D. pentru determinarea tipului. Alături de filtratul care conținea hematiile de cobai am așezat încă o eprubetă, iar la filtratul existent în aceasta am adăugat hematiile de pasăre. În felul acesta am dorit să asigurăm exactitatea reacției. Intensitatea reacției pozitive a fost însemnată cu ajutorul crucilor și anume în felul următor: hemoaglutinarea completă cu granulații mari ++++, hemoaglutinarea cu granulații mai mărunte +++, hemoaglutinarea parțială: ++, hemoaglutinarea fină pulveriformă: +, iar hemoaglutinarea abia vizibilă ±. La interpretarea rezultatelor, hemoaglutinările marcate cu + și ± au fost considerate incerte.

În tabelul de mai jos sînt cuprinse rezultatele hemoaglutinării S. D. la lichidele de spălare nazofaringeană.

Tabel nr. 1.

Numărul lichidelor nazofaringiene	Hemaglutinări pozitive	Hemaglutinări negative	Hemaglutinări incerte +
252	114	83	51

+, În 4 cazuri nu am putut aprecia hemoaglutinarea.

Din tabel rezultă că lichidele nazofaringiene au dat o hemoaglutinare pozitivă în 45,2%. Această valoare este aproape identică cu rezultatele autorilor sovietici O. P. Peterson, S. A. Semascov și I. P. Smahtina citate de N. Cașal (în ziua 1—3 de boală 45,4%). Smorodincev a relatat pozitivitatea hemoaglutinării în 40%.

Determinarea de tip a virusului gripal am efectuat-o cu metoda S. D. În 14 cazuri a dat o hemoaglutinare pozitivă. (Ca ser de tip am întrebuințat serul antigripal A, A₁ și B biofiltrat preparat de *Behringwerks*). Notăm că nu am avut la dispoziție ser de tip A₂. De aceea observațiile noastre referitoare la prezența eventuală a sușei A₂ se bazează numai pe probele de hemoaglutinare efectuate cu celelalte seruri. (dacă în eprubeta care conținea filtratul și serul A, A₁, B precum și numai filtrat am constatat producerea hemoaglutinării.

am presupus că în filtratul respectiv virusul A_2 este prezent). Determinarea de tip efectuată în lichidele de spălătură nazofaringeană a dat următoarele rezultate:

- Virus gripal de tip A: 5.
- Virus gripal de tip A_1 : 2.
- Virus gripal de tip „ A_2 ”: 5.
- Virus gripal de tip B: 0.
- Aprecierea nu s-a putut face în 2 cazuri.

2. Inoculările pe ouă

Materialul respectiv hematiile care a dat hemoaglutinare pozitivă respectiv hematiile aglutinate au fost inoculate potrivit metodei curente în cavitatea amniotică a ouălor embrionate timp de 8—10 zile după un tratament prealabil de penicilină și streptomycină (1). În total am efectuat 4—6 pasaje. Înmulțirea virusurilor am controlat-o cu proba clasică de hemoaglutinare Hirst (4). În cursul pasajelor capacitatea virusurilor de a aglutina hematiile aviare s-a intensificat. Mai întâi această capacitate a apărut în pasajul al III-lea. Dintre cele 8 materiale studiate inocularea la ouă a fost pozitivă în 3 cazuri. În acestea am efectuat inhibiția hemoaglutinării după metoda Hirst, două cazuri le-am considerat de tip A_1 , iar un caz de tip „ A_2 ”.

Numărul redus de probe nu permite să tragem concluzii generale. Totuși notăm că am găsit și ser care inhibează sușa gripală standard de tip A.

3. Inoculări la animale.

Cu tulpinile cultivate în ou am inoculat intra-nazal șoareci și hamsteri. Inoculările la animale au rămas în parte negative, cu toate că numărul pasajelor la șoareci a fost 7. *Cajal* (1) susține că sînt necesare 3—8 pasaje pentru ca virusul să provoace la șoareci modificări-lezuni corespunzătoare. *A. Denevici* și colaboratorii (2) constată că uneori sînt necesare 13 pasaje pentru îmbolnăvirea animalelor inoculate. Cercetările lor arată că în 1953 au fost necesare în medie 2,9 pasaje, în 1954, 12,2 pasaje și în 1955 10,8 pasaje pentru ca virusul să provoace îmbolnăvirea șoarecilor.

În plămînul citorva șoareci morți am găsit lezuni bronhopneumonice, iar la hamsteri unu lobi pulmonari au prezentat o hepatizare masivă.

Examen bacteriologic

Materialul nostru de examinat a fost prelevat de la bolnavi în stare gravă internă în spital. De aceea în 117 cazuri am efectuat și examenul bacteriologic al lichidului de spălătură faringiană.

La formele cu complicații modificarea florei faringiene are o importanță considerabilă. Am utilizat agar de ser vertheim conținînd agar de sînge și ser sanguin uman de 3 zile. Clasificarea bacteriilor crescute este următoarea:

1. Haemophylus influenzae	30	Alți agenți patogeni găsiți sînt următorii:
2. Klebsiella pneumoniae	21	Corynebact, pseudodiphtheriae
3. Staphylococcus aureus	4	Pseudomonas aeruginosa
4. Streptococcus viridans	5	Profetus vulgaris
5. Fusobact, fusiforme	7	Escherichia coli
6. Candida albicans	12	
7. Neisseria catarrhalis	8	
8. Floră mixtă	10	
9. Leptotrix bucalis	1	
10. Diplococcus pneumoniae	1	
11. Alte bacterii	10	
12. Streptococcus albus	10	

Total: 117

În provocarea pneumoniilor grave survenite în cursul gripei pe lângă virus figurează indeosebi *H. influenzae*, *Kl. pneumoniae* și *Staphylococcus aureus*. Menționăm că în 18 cazuri de lichid de spălare faringiană cu hemoaglutinare pozitivă am pus în evidență *Haemophylus influenzae*. Faptul acesta poate să confirme acțiunea concomitentă a virusurilor și al bacteriilor în procesele pulmonare. Din plămânul unui bolnav decedat din cauza pneumoniei am obținut *H. influenzae* în cultura pură. Flora bacteriană a căilor respiratoare superioare examinată de noi nu se deosebește de observațiile relatate de alți autori (5), cu toate că noi credem că o asemenea incidență a *Haemophylusului influenzae* și *Kl. pneumoniae* este patologică.

Concluzii:

1. În timpul epidemiei de gripă din anul 1959 am examinat lichidul de spălătură nazofaringiană prelevat de la 252 de bolnavi spitalizați, pentru a pune în evidență infecția virală și pentru a determina tipizarea virusurilor. Probele de hemoaglutinare au dat un rezultat pozitiv în 54,2%, valoare care concordă cu datele existente în literatura sovietică și din țara noastră.

2. La începutul epidemiei în lichidul faringian a fost pus în evidență tipul A, A₁ și tipul A₂ presupus. În cursul determinării virale efectuate prin inoculări în ouă s-a semnalat prezența tipului A₁ și A₂.

3. Inoculările pe animale (șoareci, hamsteri) nu au dat rezultate concludente în ceea ce privește patogenitatea virusului, fapt explicabil prin numărul redus al pasajelor.

4. Examenul bacteriologic al lichidului de spălare nazo-faringiană a pus în evidență frecvența relativ crescută a *H. influenzae* și *Kl. pneumoniae*, fapt care indică rolul acestor bacterii în formele complicate.

Exprimăm pe această cale mulțumirile noastre colectivului de muncă al spitalului care a funcționat în timpul epidemiei și conducătorului acestuia prof. dr. *I. Kelemen*, precum și tuturor unităților care au contribuit la efectuarea cercetărilor noastre.

Sosit la redacție: 4 noiembrie 1959.

Bibliografie

1. CAJAL, M.: Diagnosticul de laborator al inframicrobiodelor umane. Editura Academiei R.P.R. (1958); 2. DEREVICI, A. și colab.: Studii și cercetări de inframicrobiologie 8, 2, 173—189 (1957); 3. SINAI, G. J., BIRGHER, O. G.: Diagnosticul microbiologic al bolilor infecțioase. București. E. S. 638 (1952); 4. HIRST, G. K.: J. Exp. Med. 75, 49 (1942); 5. TOPLEY, WILSON: Principles of Bacteriology and Immunology London, Vol. II. 1902 (1949); 6. Citat de Cajal: (PETERSON C. P., SEMASKO S. A., SMAHTINA J. P.: Voprosi med. virus. 1, 182 (1948).