

Disciplina de microbiologie (cond.: conf. I. László, doctor în medicină)
a I.M.F. Tîrgu Mureș

CERCETĂRI SEROLOGICE ÎN HEPATITA EPIDEMICĂ

I. László, Sanda Munteanu, B. Sebe, L. Kasza, M. Péter

Din 1961 și pînă astăzi în unele lucrări elaborate pe baza efectuării unor cercetări serologice ca cele ale lui O. Malley și colab. (15), Rightsel și colab. (16), Davis (5), Bolin și colab. (2) etc., se aduc o serie de argumente privind rolul etiologic al virusurilor izolate de la cazuri de hepatită.

Rezultatele contradictorii obținute în urma încercărilor de a reproduce cercetările amintite precum și semnalarea unor noi tipuri de virusuri, dintre care unele au putut fi tipizate, iar altele nu, au complicat și mai mult opinia cercetătorilor cu privire la agentul etiologic al hepatitei epidemice (18).

Izolarea unor adenovirusuri de la indivizi cu hepatită de către Davis (5), Teoharova și colab. (17), Kerim-Zade (9), Köhler și colab. (10), modificările histopatologice observate la animalele infectate cu aceste virusuri — Apodaca și colab. (1), rezultatele tipizării unor tulpini izolate — Hatch și colab. (7), au atras atenția cercetătorilor asupra acestui grup de virusuri, care au fost considerate răspunzătoare în declanșarea bolii.

Hillis (8) într-o lucrare în care analizează stadiul actual al cunoștințelor asupra etiologiei hepatitei epidemice, arată unele caracteristici ale incidenței bolii în rîndul persoanelor care se ocupă cu îngrijirea cimpanzeilor în diferite laboratoare de cercetare. Virusul izolat de la un animal cu boală letală, a fost identificat a fi un adenovirus tip. 1.

În cercetările noastre anterioare (11, 12, 14) am caracterizat majoritatea tulpinilor de virusuri izolate de noi atît din punct de vedere morfologic și biologic cît și serologic.

Cu privire la incidența și rolul unor adenovirusuri în etiologia hepatitei, părerea noastră a fost că acești agenți virali sînt virusuri auxiliare (helper virus), care condiționează reproducerea virusurilor hepatitice defective (13).

Lucrarea de față are ca scop studiarea incidenței anticorpilor fixatori de complement (afC) și a anticorpilor neutralizanti (aN) față de virusurile hepatitice izolate de noi — considerate virusuri defective. — studiarea incidenței afC față de adenovirusuri, precum și studiarea dinamicii creșterii anticorpilor hemaglutinantți (aH) și aN față de adenovirusurile auxiliare. Am acordat o atenție deosebită urmării creșterii anticorpilor amintiți față de virusul hepatitic 208 cultivat simultan cu adenovirusul tip 3 — tulpina 208 H.

Material și metodă

I. *Reacția de fixare a complementului*: pentru efectuarea reacției am folosit seruri provenite de la bolnavi de hepatită, recoltate în primele 5—14 zile ale bolii și în convalescență (171 de bolnavi); seruri recoltate de la indivizi sănătoși (98 persoane) și de la donatori de sînge (151 persoane).

Antigen: Ne-a servit ca antigen în reacție după o prelucrare adecvată lichidul culturilor de celule Detroit-6 (VA) infectate cu tulpinile izolate de noi (R, V9, V6 și 163 S) cu 0.2 cc din diluția 10^{-6} = DCP₅₀.

Pentru efectuarea probei am folosit tehnica RFC descrisă de *Cajal* (3).

II. Reacția de seroneutralizare

a) Serurile bolnavilor de hepatită epidemică au fost recoltate în trei reprize în cursul bolii și anume la începutul bolii, la apogeul și în perioada de convalescență.

S-a urmărit la 10 bolnavi dinamica creșterii aN față de virusul hepatitic 208, față de adenovirusul tip 3, față de virusul 208 H. Reacția a fost efectuată conform tehnicilor curente (3).

b) La un alt grup de bolnavi cu hepatită cronică s-a studiat incidența aN față de virusurile R, V9, V6 și 163 S în perioada de convalescență.

III. Cercetarea afC, anticorpilor precipitanți și aN față de adenovirusuri

a) RFC a fost efectuată conform tehnicii anterioare din serul bolnavilor de hepatită (16 seruri), din seruri obținute de la donatori de sânge cu disproteinemie (12 seruri) și din seruri provenite de la indivizi sănătoși (18 seruri), cu virusuri de tip „adeno“ ca: adenovirusul tip 3, H (Moscova) și un virus hepatitic — tulpina R.

b) Reacția de precipitare în agar față de adenovirusul tip 3 s-a efectuat după metoda descrisă de *Crowle* (4). În total au fost examinate 16 seruri. Plăcile au fost menținute la o temperatură de 22—24° C. Benzile de precipitare apar abia după 20 zile, prezentind o manifestare optimă după 40 de zile de la efectuarea probei.

c) La un număr de 20 de bolnavi cu hepatită am urmărit apariția anticorpilor hemaglutinanți față de virusul hepatitic defectiv 208, față de virusul 208 H și față de adenovirusul tip 3, prin metoda de hemaglutinare pasivă descrisă de *Friedmann* și *Bennett* (6). Reacțiile au fost efectuate la începutul bolii, la apogeul și în convalescență.

Rezultate

RFC efectuată la 171 bolnavi de hepatită, 151 donatori de sânge și la 98 indivizi sănătoși a prezentat pozitivitate în următorul procentaj: 71.89% la bolnavi, 42.97% la donatori și 23.45% la indivizi sănătoși. Valori peste titrul 1/16 s-au înregistrat la 35 bolnavi de hepatită, la 18 donatori și numai la 2 persoane sănătoase (vezi graficul nr. 1).

Din graficul nr. 2 reiese o creștere netă în tot cursul bolii a anticorpilor neutralizanți față de virusul 208 H în 6 cazuri. În 3 cazuri această creștere a avut loc față de virusul hepatitic 208, iar într-un singur caz s-a observat o scădere a titrului anticorpilor față de virusul 208 H. Menționăm că titrul aN față de adenovirusul tip 3, după o creștere ușoară scade și dispare în convalescență.

Rezultatele reacției de seroneutralizare efectuate la 17 bolnavi de hepatită, arată în 14 cazuri înrudiri serologice între tulpinile de virus folosite în reacție (graficul nr. 3).

Anticorpi fixatori de complement față de adenovirusurile folosite în reacție nu s-au găsit în două cazuri din cele 16 cazuri de hepatită examinate. Se pare că tulpina de virus R, având caracterile unui adenovirus — care se multiplică în nucleu și în citoplasmă — are un rol etiologic în cazurile noastre de hepatită. Anticorpi precipitanți față de adenovirusul tip 3 au fost decelați în 13 seruri (graficul nr. 4).

Valorile RFC executate cu adenovirusul tip 3 și cu virus hepatitic tip R la donatori de sânge cu disproteinemie sînt semnificative. Anticorpii fixatori de complement față de adenovirusul tip 3 sînt absenți numai în două cazuri și față de

virusul hepatitic R doar într-un singur caz. În serul celor 18 donatori sănătoși, afC față de adenovirusul tip 3 lipsește în 6 cazuri și față de virusul hepatitic R în 7 cazuri. Prin urmare prezența afC față de adenovirusul tip 3 în serul bolnavilor de hepatită și al indivizilor sănătoși, pledează pentru larga răspândire a acestui virus și pentru rolul lui în etiologia bolii (graficele nr. 5 și 6).

Reacția de hemaglutinare pasivă — 20 de cazuri — pare să furnizeze date ilustrative asupra dinamicii creșterii anticorpilor față de adenovirusul tip 3 și virusul 208 H la bolnavii de hepatită (tabel nr. 1).

Anticorpi hemaglutinanți față de virusul 208 H sînt prezenți în 15 cazuri, titrul lor scade în 3 cazuri și rămîne nemodificat în 2 cazuri. În 4 din cele 15 cazuri pozitive am observat în același timp și o creștere a titrului aH față de adenovirusul tip 3, în restul cazurilor observîndu-se stagnarea sau scăderea acestuia. Creșterea titrului aH față de virusul 208 H, arată că în urma cultivării simultane a celor 2 virusuri (adeno tip 3 și 208) presupusul virus nou — 208 H — trebuie să conțină un antigen sau o fracțiune antigenică, față de care apar anticorpi specifici la bolnavii de hepatită.

Discutarea rezultatelor

Aplicarea metodelor complexe serologice în studierea apariției anticorpilor specifici, are un rol foarte important în elucidarea etiologiei hepatitei epidemice.

Rolul unui virus izolat de la un bolnav sau în cazul unei epidemii de hepatită în etiologia bolii, pe lângă reproducerea acesteia la animale, trebuie dovedit și pe cale serologică.

După cum reiese din literatura de specialitate recentă în etiologia hepatitei se acordă o atenție deosebită unor adenovirusuri (Köhler, 10; Apodaca, 1; Davis, 5; Hatch, 7; Kerim-Zade, 9; Teoharova, 17).

Într-o lucrare anterioară (13) am semnalat că apariția anticorpilor față de adenovirusuri în hepatită, în multe cazuri coincide cu apariția anticorpilor față de virusurile hepatitice. Pe de altă parte, în experiențe pe animale s-a observat că virusul hepatitic defectiv, în prezența unui adenovirus auxiliar, cauzează leziuni hepatice similare cu cele descrise în boala naturală la om.

Rezultatele cercetărilor cuprinse în lucrarea de față, subliniază din nou, dar acum pe baza aplicării metodelor complexe serologice, importanța și rolul adenovirusurilor în etiologia bolii. Opinia noastră este că adenovirusul auxiliar nu acționează direct asupra celulelor hepatice, dar completează virusul hepatitic defectiv, favorizînd reproducerea lui în celulele sistemului reticulo-endotelial, ajungînd în a doua etapă în ficat. Apariția în serul bolnavilor de hepatită a anticorpilor neutralizanți și hemaglutinanți față de un virus hepatitic defectiv întărit de un adenovirus, precum și creșterea titrului acestora în cursul bolii, pare să aducă noi dovezi pentru susținerea concepției noastre.

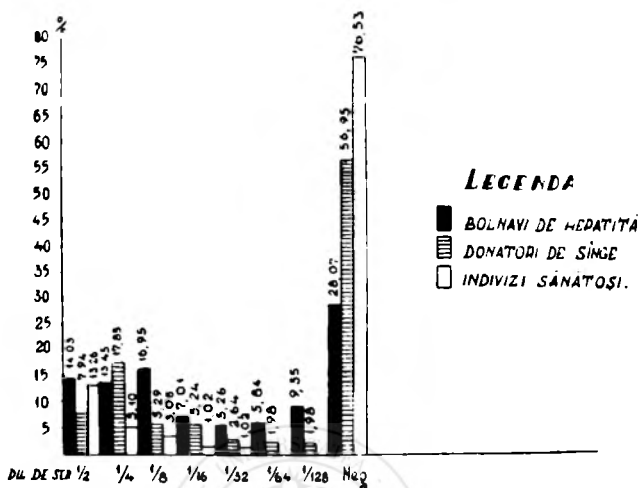
Concluzii

1. Valorile pozitive ale RFC efectuate cu tulpini de virusuri izolate între anii 1957—1962 la bolnavi de hepatită (71.89%), la donatori de sînge (42,97%) și la indivizi sănătoși (23.45%) indică o largă răspîndire a acestor virusuri.

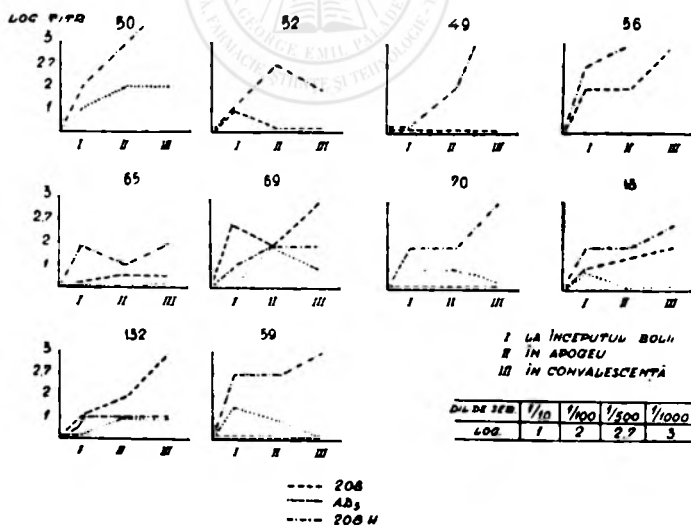
2. Se constată afC față de unele tulpini de adenovirusuri nu numai la bolnavi de hepatită, dar și la indivizi sănătoși, în majoritatea cazurilor studiate.

3. Rezultatele reacției de seroneutralizare și a reacției de hemaglutinare pasivă aplicate la bolnavi de hepatită în cursul bolii cu folosirea unui virus

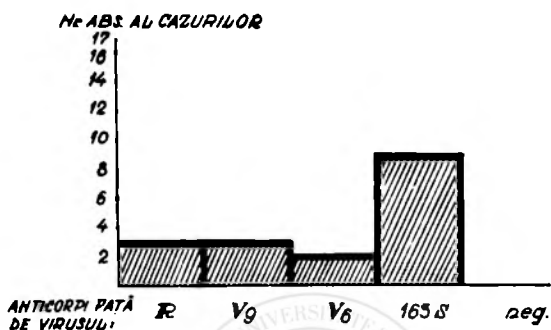
I LAZSLÓ ȘI COLAB : CERCETĂRI SEROLOGICE ÎN HEPATITA EPIDEMICĂ



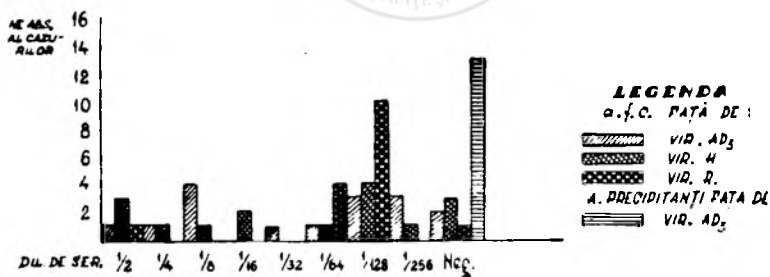
Graficul nr. 1.: Valorile obținute în RFC.



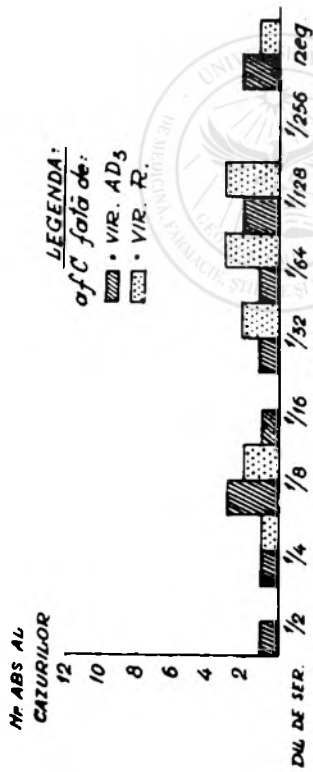
Graficul nr 2 : Dinamica creșterii aN la bolnavi cu hepatită față de virusurile 208, adenovirusul tip 3, și virusul 208H



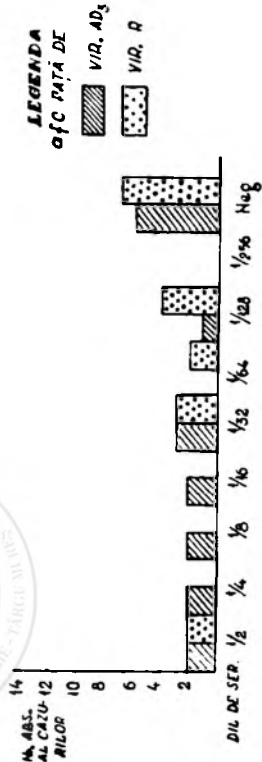
Graficul nr. 3.: Incidența aN față de virusurile hepatice R. V9. V6. 163S.



Graficul nr. 4.: Anticorpi fixatori de complement și anticorpi precipitanți față de adenovirusul tip 3 în serul bolnavilor de hepatită.



Graficul nr 5 : Anticorpi fixatori de complement la donatori de singe cu disproteinemie.



Graficul nr. 6 : Anticorpi fixatori de complement la donatori sănătoși.

Tabelul nr. 1

Dinamica creșterii anticorpilor hemaglutinanți față de adenovirusul tip 3
și virusul 208 H

Nr. de in- registrare al serului	Virusul întrebuințat în reacție	Diluția de ser cu reacție pozitivă		
		la începutul bolii	la apogeul	în conva- lescență
50	ADENO 3 208 H	1 2	1 64	1 128
		1 512	1 512	1 1024
52	ADENO 3 208 H	1 128	1 128	1 128
		1 512	1 1024	1 2048
49	ADENO 3 208 H	1 4	neg.	1 2
		1 512	1 64	1 2048
53	ADENO 3 203 H	1 4	1 4	1 2
		1 128	1 32	1 512
59	ADENO 3 203 H	1 64	1 16	neg.
		1 512	1 512	1 1024
56	ADENO 3 208 H	1 8	1 8	1 8
		1 32	1 32	1 512
60	ADENO 3 208 H	1 128	1 128	1 4
		1 512	1 64	1 16
62	ADENO 3 208 H	1 2	neg.	neg.
		1 1024	1 512	1 125
64	ADENO 3 208 H	1 16	1 8	1 16
		1 128	1 64	1 512
54	ADENO 3 208 H	1 4	neg.	—
		1 2048	1 2048	—
65	ADENO 3 208 H	1 4	1 4	1 4
		1 16	neg.	1 64
69	ADENO 3 203 H	1 32	1 32	1 16
		1 1024	1 16	1 64
63	ADENO 3 203 H	1 4	1 8	1 512
		1 16	1 32	1 512
70	ADENO 3 203 H	1 256	1 512	1 4
		1 128	1 128	1 64
74	ADENO 3 203 H	1 128	1 16	1 16
		1 512	1 32	1 512
73	ADENO 3 208 H	1 128	1 256	1 512
		1 128	1 256	1 512
75	ADENO 3 208 H	1 8	1 2	1 8
		1 8	1 8	1 16
76	ADENO 3 203 H	1 8	1 8	1 8
		1 16	1 16	1 64
82	ADENO 3 208 H	1 4	1 8	1 8
		1 8	1 16	1 64
85	ADENO 3 203 H	1 8	1 8	1 16
		1 8	1 128	1 128

hepatitic defectiv (208) a adenovirusului tip 3 și a virusului 208 H, prin punerea în evidență a creșterii titrului anticorpilor specifici față de virusul 208 H, *pledează pentru rolul adenovirusurilor auxiliare (helper virus) în etiologia hepatitei epidemice.*

Sosit la redacție: 23 ianuarie 1969.

Bibliografie

1. APODACA J., LANGE W., KÖHLER H.: Zbl. Bakt. I. Orig. (1968), 207, 100;
2. BOLIN V. S., BRAUNINGER G. E., JUDITH PARDEE, ELSEWER J. B.: Transfusion (1963), 3, 6, 455;
3. CAJAL N.: Diagnosticul de laborator al infamicrobiozelor umane, Edit. Acad. R.P.R. 1958, București;
4. CROWLE A. J.: J. Lab. Clin. Med. (1960), 55, 593;
5. DAVIS E. V.: Science (1961), 133, 3470, 2059;
6. FRIEDMANN M., BENNETT C. R.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. (1957), 94, 712;
7. HATCH M. H., SIEM R. A.: Am. J. Epidem. (1966), 84, 3, 495;
8. HILLIS W. D.: The John Hopkins Med. J. (1967), 120, 3, 176;
9. KERIM-ZADE K.: Vopr. virusol. (1962), 5, 582;
10. KÖHLER H., APODACA J., SPRINGER D.: Zbl. Bakt. I. Orig. (1967), 207;
11. LÁSZLÓ I., PÉTER M., FILEP V., BÁLINT E., ÁBRAHÁM AL., IZSÁK B.: Rev. Med. (1964), 10, 280;
12. LÁSZLÓ I., BÁLINT E., FILEP V., PÉTER M., ÁBRAHÁM AL., SUSANA ALMÁSI: Nature (1965), 207, 326;
13. LÁSZLÓ I., SANDA MUNTEANU, BOTH IULIANA, SEBE A., FILEP V., SUSANA ALMÁSI: Rev. Med. (1967), 3—4, 266;
14. LÁSZLÓ I.: Rev. Med. (1966), 2, 176;
15. O'MALLEY J. P., MAYER H. M., SMADEL J. E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1961), 108, 200;
16. RIGHTSEL W. A., KELTSH R. A., TAYLOR A. R., BOGGS J. D., McLEAN J.: J.A.M.A. (1961), 177, 671;
17. TEOHAROVA M., LAGOS P. M., ROGES R., ANDONOV P.: Bol. Hig. Epidem. I—III, (1963), 79, Cuba;
18. WHO Expert. Committee on Hepatitis. Second Report. WHO, Geneva, 1964