



SHEVCHENKO SCIENTIFIC SOCIETY, INC.
НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО ІМ. ШЕВЧЕНКА В ЗДА
302-304 WEST 13TH STREET, NEW YORK 14, N.Y.

PAPERS ДОПОВІДІ

Ч. 2.
No.

Проф. Микола Остап'як

ІЗОЛЮВАННЯ ВІРУСА АЗІЙСЬКОЇ ІНФЛЮЕНЦИ
З ПРОБНИХ ЗРАЗКІВ - ПОЛОКАНЬ ГОРЛА ТА АВТОПСІЙНОГО МАТЕРІЯЛУ

Prof. Mykola Ostapiak

Isolating the Virus of Asian Influenza
from Samples of Gargling the Throat and Autopsy Material.

ОСЕРЕДОК ПРАЦІ НТШ, ФІЛЯДЕЛЬФІЯ

Shevchenko Scientific Society Study Center
Philadelphia, Pa

1958

Поручили для публікації 28. серпня 1958 р.
проф.д-р Григор Лужницький, дійсний член НТШ
дир. Володимир Дорошенко, дійсний член НТШ

Редактор
Роман Кобринський

This paper may be reproduced,
provided the source is cited.

Ціна
50 центів

Проф. Микола Остап'як

ІЗОЛЮВАННЯ ВІРУСА АЗІЙСЬКОЇ ІНФЛЮЕНЦИ

З ПРОБНИХ ЗРАЗКІВ - ПОЛОКАНЬ ГОРЛА ТА АВТОПСІЙНОГО МАТЕРІАЛУ.

В часі епідемії азійської інфлюенци лабораторії для вірусних хворіб одержували численні пробні зразки для діагностичного прослідження. Був це переважно фізіологічний розчин, яким прополокано горло хворої людини, якої хвороба - своїми проявами, скидалась на інфлюенцу. У смертних випадках присилано до лабораторії автопсійний матеріал, що його взято від померлої людини, після посмертного розтину. Керівництву лабораторії, а зокрема Департаментові Здоров'я йшло про те, щоб якнайскоріше визначити місця, які ставали вогнищем епідемії. В наслідок дуже великої кількості пробних зразків, лабораторія не була в спроможності прослідити всі зразки, які прийшли з одної місцевості, чи взагалі з якогось людського скупчення, на приклад школи, фабрики, шпиталю і т.п. Діагностичну працю лабораторії зраціоналізовано тим способом, що призначений матеріал для прослідження по-сортвано в групи залежно від того, звідки той матеріал прийшов. Коли в якійсь групі, на приклад школі, знайдено два - три позитивні випадки азійської інфлюенци, тоді ту групу залишено, а просліджувано за чергою інші групи. Цим способом дуже скоро викривано вогнища епідемії. Впродовж вересня і жовтня 1957 р. ціла карта території стејту Пенсильвенії була вкрита червоними пунктами, себто відміченнями тих місць, де лабораторно стверджено випадки азійської інфлюенци. Останній випадок цієї недуги стверджено в лабораторії через ізолювання вірусу в квітні 1958 р. Хоча до лабораторії й досі прибувають від часу до часу зраз-

ки для ізолювання вірусу, то результати їхнього прослідження є завжди негативні. Ці негативні результати не є ще доказом того, що по азійській інфлюенці нема вже сліду, бо спорадичні випадки можуть траплятися й далше. Часом причиною негативного результату може бути спізнене забрання пробного зразку від хворого, або цей зразок задовго перебував в кімнатній, невідповідній для вірусу, температурі; через те цей мікроорганізм став неактивним і тим самим цей зразок став непридатним для ізолювання з нього вірусу.

Найвідповіднішим зразком, з якого можна легко ізолювати вірус інфлюенци, є 10 - 15 куб. сантиметрів фізіологічного розчину, яким докладно прополокано горло хворої людини на інфлюенцу, в початкових днях хвороби, та цей зразок вислано без проволікання до лабораторії. Якщо цей зразок неможна скоро вислати до лабораторії, тоді можна його переховати один-два дні в холодильнику при температурі плюс 4° Цельсія. Коли висилка того зразка вимагає довшого часу, нпр. 1 - 2 тижні, тоді він повинен бути заморожений /-20° С/. В температурі -70° С можна зберігати вірус інфлюенци впродовж місяців а то й років. Рівнож лабораторна практика виказала, що кількаразове заморожування і відморожування зразка зменшує вітальну силу вірусу і через те результат прослідження може бути негативним. Таким самим способом повинен бути збережений і автопсійний матеріал.

На докладні та всесторонні студії над вірусом азійської інфлюенци не було часу під час епідемії, але досліди виконані на швидку руку в часі її послаблення, ствердили між іншим, що так як "стара" інфлюенца, головно типу "А", яка звичайно виступає епідемічно, так само і азійська інфлюенца - завдячують своє незвичайно скоре поширення особливо тій обставині, що вірус знаходиться на початку недуги

в більшій кількості в секретії горла, звідки в наслідок кашлю, чхання чи говорення розсівається довкруги. Людина, яка тоді не почувасться ще настільки хворою, щоби залишитися в ліжку, контактується з незараженими людьми і розсіває хворобу.

Для підтвердження цього подаємо результати титрування інфективности вірусів азійської інфлюенци, що їх виполокано фізіологічним розчином з горла хворої людини. Розчин той розріджено в різних відношеннях, а саме від $1/10$ до $1/1.000,000$. Цими різними розрідженнями включно з нерозрідженим розчином нащеплено десятиденні курячі ембріони тим способом, що до амніональної порожнини ембріону впроваджено по 0.2 куб. сантиметра щеплянки. Для кожного розрідження вжито по 10 ембріонів. Після 48-годинної інкубації в температурі плюс 37° Цельсія, зібрано окремо від кожного ембріону амніональну рідину, яку випробувано при помочі гемоаглютинаційного тесту відносно наявности та релятивної кількості вірусів азійської інфлюенци. Цю пробу виконано в такому відношенні суспензії вірусів до 1% суспензії курячих еритроцитів:

0.4 куб.цент. вірусів плюс 0.2 куб.цент. еритроцитів.

Ця проба виявила, що кожне розрідження полокання горла, за винятком найвищого розрідження себто $1/1.000,000$, заразило більшу або меншу кількість ембріонів.

При досліджуванні інфективности вірусів пробного зразка, стверджено також явище гомологічної інтерференції /втручання/.

В поданій, на 4-тій стороні, таблиці бачимо, що нерозріджений матеріал, тобто з найсильнішою концентрацією вірусів, заразив тільки три ембріони - на всіх нащеплених 10, а деякі розрідження вищого ступня заразили значно більшу кількість ембріонів. Напр. три

розрідженні 1:100 бачимо аж 7 заражених ембріонів. Це явище не є ще докладно просліджене. Деякі автори /Генле/ добачують його причину в сильній концентрації неактивних вірусів, які стоять на перешкоді активним вірусам в інфекції амніональної оболонки.

Т А Б Е Л Я

тітрування інфективности в і р у с у азійської інфлженци, що находився в пробному зразку /полокання горла/, з наявністю я - вища інтерференції:

Розрідження фізіологічного розчину, що ним прополокано горло хворої людини	Кількість нашеплених 10-денних курячих ембріонів	Доза шеплянки для кожного ембріона в куб. сантиметрах	Кількість ембріонів з позитивним результатом, по 48-годинній інкубації	Гемоаглютаційний титр вірусів в амніональній рідині
Нерозріджений розчин	10	0.2	3	64
Розріджений 1/10	10	0.2	5	128
" 1/100	10	0.2	7	128
" .. 1/1000	10	0.2	4	64
" 1/10000	10	0.2	2	32
" .. 1/100000	10	0.2	1	32
" 1/1000000	10	0.2	0	-

Подані числа це найвищі розрідження амніональної рідини, в яких наступила ще гемоаглютація.

В часі епідемії азійської інфлженци бували ускладнення, які кінчилися смертю. Присланий автопсійний матеріал /звичайно легені/ був просліджуваний з особливою докладністю; не виключувано від про-

слідження ані одного присланого пробного зразка. З нього роблено 20%-ву суспензію, яку центрифуговано впродовж 20 хвилин із швидкістю 3000 оборотів на хвилину. Просліджувано зливки, який стерилізовано від бактерій антибіотиками /500 одиниць на 1 куб. сантиметр суспензії/. Після півгодинної інкубації в кімнатній температурі, цією суспензією нащеплювано курячі десятиденні ембріони попередньо поданим способом.

При стерилізації пробних зразків стверджено в кількох випадках наявність стафілюкоків, сильно відпирних на пеніциліну, так що навіть 1000 одиниць цього антибіотика на 1 куб. сантиметр зразка не протидіяло активності цих бактерій, що знаходилися в пробному зразку.

У випадках негативного результату при просліджуванні зразків, роблено сліпі пасажі, тобто нащеплювано курячі ембріони амніональною рідиною, зібраною під час першої негативної проби. Завдяки сліпим пасажам одержано 15% нових ізолятів на всі позитивні випадки.

Рівночасно роблено спроби ізолювання вірусів азійської інфлюєнці з пробних зразків при допомозі тканинних культур, а саме тканин мавп'ячих нирок, які годують *in vitro*. Спроби ці, за двома винятками були безуспішними.

В часі епідемії азійської інфлюєнці не ізолювано ані в одному випадку бактерії Гемофілюс інфлюєнці. Можливо, що брак співдії цієї бактерії з вірусом був причиною того, що ця азійська інфлюєнція була значно лагіднішою від еспанської інфлюєнці в рр. 1918 і 1919. В самих США було тоді пів мільйона смертних випадків. Особливо друга хвиля епідемії "еспанки", що охопила була людство по ці-

лому світі в осени 1918 р.,була дуже грізною; перша хвиля "еспанки" була значно лагіднішою. Дивним видавався факт,що незважаючи на наполегливі зусилля, трудно було ізолювати в часі першої хвилі епідемії, бактерію Гемофілус інфлюенци, натомість в часі другої хвилі - ізолювано цю бактерію без труднощів.Виходить, що в часі першої лагідної епідемії був переважно активним тільки вірус,а в часі другої хвилі - співдіяла разом із вірусом бактерія Гемофілус інфлюенци.Отже азійська інфлюенца нагадує першу хвилю "еспанки".

Спираючися на лабораторійних даних, можна сказати, що азійська інфлюенца атакує людей різної раси і різного віку, починаючи від немовлят,а кінчаючи на людях найстарших віком.

- - - - -

Л І Т Е Р А Т У Р А

Henle W., Henle G. - Amer. J. Med. Sciences 207,717,1944.

Henle W., Lin O.C. - J. Exp. Med. 94,305,1951.

Kilbourne E.D. - J. Exp. Med. 437,1955

Lief F., Ostapiak M., Fabiyi H., Henle W. - Antigenic Analysis
of New Isolated Influenza Virus By Complement Fixation
Test. (In print).

Доповіль зачитана на сходинах "Осередку Праці НТШ" у Філадельфії
в квітні 1958 р.

