

Partea a treia

VIROLOGIE

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL VIROZELOR

În diagnosticul de laborator al infecțiilor virale trebuie de avut în vedere o serie de aspecte clinico-epidemiologice, metodologice și tehnice, care ar putea influența exactitatea rezultatelor analizei. Unele din aceste aspecte sunt:

a) o mare varietate de virusuri, bacterii, rickettsii și alte microorganisme produc aproximativ același sindrom clinic (infecții respiratorii acute, gastroenterite ș. a.);

b) agentul cauzal al unei infecții concrete nu poate fi identificat numai pe baza simptomelor clinice;

c) depistarea virusului sau a antigenilor virali specifici în produsul patologic recoltat de la bolnav este posibilă cu o mai mare precizie, dacă se efectuează în primele zile de boală, dacă acest produs se recoltează corect și dacă se asigură condițiile pentru menținerea viabilității agentului patogen;

d) punerea în evidență a creșterii titrului de anticorpi specifici de cel puțin 4 ori în serul bolnavului, ceea ce demonstrează cu certitudine un răspuns imun activ;

e) un rol deosebit revine metodelor și tehnicilor de laborator utilizate, ca și dotării laboratorului cu utilaj și reactivi.

Diagnosticul de laborator al virozelor se face prin trei metode:

■ Depistarea agentului patogen sau a componentelor lui direct în prelevatul patologic de la bolnav (diagnosticul rapid și precoce).

■ Izolarea virusului din prelevatul patologic și identificarea lui.

■ Determinarea dinamicii anticorpilor specifici antivirali prin analiza serurilor perechi.

42. 1. DIAGNOSTICUL RAPID AL VIROZELOR

Diagnosticul rapid permite a depista virusul sau componentele lui direct în prelevate de la bolnav și a formula răspunsul peste câteva ore. În acest scop se utilizează cu rezultate foarte bune imunoscopia electronică (IME), analiza radioimună (ARI), colorația imunofluorescentă (IF), testul ELISA, contraimmunoelectroforeza (CIE). Metodele enumerate sunt avantajoase, sensibile și accesibile. Descriem mai jos principiile acestor tehnici și particularitățile lor.

Imunoscopia electronică. Într-un prim timp suspensia virală (e. g. omogenatul prelevatului patologic) este tratată cu ser antiviral de complementat, prin încălzire 30

minute la 56°C, pentru a evita «viroлиза». Reacția antigen-anticorp aglomerează virionii și ameliorează mult concentrarea lor pe grila suport pentru examinare (formvar, carbon). În următorul timp se colorează negativ virionii cu acid fosfotungstic (revedi partea întâi, 4.4.1). Se evidențiază astfel morfologia virionilor cu multe detalii de suprafață.

Utilizarea anticorpilor marcați cu feritină, peroxidază sau, mai bine, cu aur coloidal ameliorează de asemenea studiul la nivel ultrastructural al virionilor concentrați.

Se utilizează IME pentru depistarea în produsul biologic a adenovirusurilor în țesutul amigdalelor, entero- și rotavirusurilor în materiile fecale, virusului varicelei în detritusul variolic, poliovirusurilor, citomegalovirusului, virusurilor hepatitelor A și B. Metoda permite diferențierea virusurilor respiratorii din familia *Orthomyxoviridae* (virus gripal tip A, B, C) și *Paramyxoviridae* (paramixovirus tip 1, 2, 3, 4, rujeolic, respirator, sincițial).

Analiza radioimună. Pentru evidențierea antigenului viral, se amestecă materialul de examinat cu antiser specific de referință. Peste un timp se adaugă antigen omogen marcat cu izotopi radioactivi (³H, ¹²⁵I, ¹⁴C). Dacă antigenul marcat nu se cuplează, reacția este considerată pozitivă, din cauză că antigenul examinat s-a cuplat cu anticorpii specifici din serul de referință. În reacția negativă antigenul marcat se va cupla cu serul de referință omolog.

Pentru efectuarea ARI se folosește o aparatură specială radiometrică, cu ajutorul căreia se măsoară radioactivitatea complexului antigen-anticorp.

Antigenul este imobilizat în fază solidă (pe un suport insolubil, ca mărgelile din polistiren, pe pelicule din diverși polimeri sintetici, pe suprafața godeurilor sau pe peretele eprubetei).

Frecvent este utilizată ARI directă sau tehnica «în sandwich». În acest caz antigenul din proba de examinat se cuplează cu anticorpii specifici imobilizați pe suport și gradul de cuplare se determină cu alți anticorpi specifici marcați radioactiv. Radioactivitatea rămasă în faza solidă după spălare este echivalentă cu cantitatea de antigen din proba examinată.

ARI este utilizată pentru depistarea antigenului superficial al virusului hepatitei B (AgHBs) și anticorpilor anti-HBs în diagnosticul hepatitei virale B, precum și pentru identificarea într-un amestec a unor antigeni, hormoni, enzime etc.

Este o metodă foarte sensibilă, dar are dezavantajul manipulării cu reactivi marcați cu izotopi radioactivi și, respectiv, necesității laboratoarelor cu utilaje pentru măsurarea radioactivității.

Colorația imunofluorescentă. Se folosește în două variante, directă și indirectă, pentru depistarea virusului în prelevate patologice, în culturi de celule infectate, în organismul animalelor. În acest scop se utilizează conjugate imunofluorescente (cu izotiocianat de fluoresceină, rodamină).

Tehnica montării IF în ambele variante este descrisă în partea întâi, 10.2.2.5.

IF se folosește cu succes pentru diagnosticul rapid al gripei, paragripei, infecțiilor adenovirale, enterovirale, rujeolei, oreionului, rabiei, hepatitelor, varicelei, infecției cu rotavirusuri ș. a., prin examinarea preparatelor din cele mai diverse prelevate patologice.

ELISA este metoda anticorpilor marcați cu enzime (peroxidaza din hrean, fosfataza alcalină). Actualmente se utilizează reacția imunoenzimatică pe fază solidă (revedi partea întâi, 10.2.2.5). Sensibilitatea și specificitatea ei cresc prin utilizarea anticorpilor monoclonali. Dă rezultate deosebite în diagnosticul rapid al infecției herpetică (herpesvirus tip 1 și 2), cu citomegalovirus, rabiei, virozelor respiratorii, rujeolei, infecției cu virusuri

Coxsackie B, hepatitei virale B, în diagnosticul infecțiilor virale cronice, persistente și lente.

Contraimunoelectroforeza (revedi partea întâi, 10.2.2.1). Deși este reacția cea mai puțin sensibilă, se mai folosește încă pentru depistarea AgHBs în serurile bolnavilor cu hepatită B, precum și pentru depistarea altor antigeni virali cu încărcătură electrică negativă.

42.2. IZOLAREA ȘI IDENTIFICAREA VIRUSURILOR

În majoritatea cazurilor concentrația virusului în produsul patologic este insuficientă pentru decelarea directă a lui sau a antigenilor și atunci se recurge la izolarea virusului, identificat ulterior prin diferite metode.

Izolarea virusurilor se efectuează în următoarele scopuri:

- Determinarea tipului și variantei unui virus circulant în populație când se examinează infecții sporadice, izbucniri epidemice și epidemii.
- Diagnosticul virozelor care impun măsuri urgente antiepidemice (e. g. confirmarea diagnosticului gripei, poliomielitei, encefalitei indică și orientează imunizarea populației).
- Diagnosticul infecțiilor cauzate de noi serovaruri de virus necunoscute anterior.
- Depistarea virusurilor ca indicatori de poluare microbiologică a unor elemente din mediul ambiant.

Pentru izolarea virusurilor este important ca produsul patologic de la bolnav să fie recoltat cât mai precoce posibil, respectând regulile de asepsie, care evită contaminarea bacteriană, precum și infectarea personalului. Probele se transportă în container cu zăpadă carbonică.

Dacă probele nu pot fi examinate imediat, trebuie congelate la -70°C . Deseori se folosesc medii de transport cu antibiotice pentru inhibarea florei de contaminare.

Se examinează spălături nazofaringiene, materii fecale, lichid cefalorahidian, conținutul veziculelor, al pustulelor ș. a.

Diagnosticul virusologic are trei etape:

- izolarea virusului;
- urmărirea reproducerii;
- identificarea.

1. Izolarea virusului se efectuează în funcție de particularitățile agentului etiologic prezumtiv și posibilitățile laboratorului. Virusurile pot fi izolate:

- în culturi de celule;
- în ouă embrionate de găină;
- în organismul animalelor receptive de laborator.

Izolarea virusului în culturi de celule. În 1948—1952 a fost demonstrată posibilitatea cultivării celulelor de mamifere *in vitro* și astfel a apărut ideea, ulterior confirmată, că virusurile se pot replica (reproduce) în afara organismului animal (Carrel, Enders, Weller, Robins).

Pentru diagnosticul de laborator al virozelor se utilizează culturile în strat monocelular. Sunt cunoscute 3 tipuri de culturi de celule: primare, diploide și continui sau linii celulare (stabile).

Culturile primare se obțin direct din țesuturile animalului sau ale omului prin dezagregare tisulară cu ajutorul enzimelor proteolitice (tripsina, colagenaza ș.a.). Celulele dispersate, introduse în mediul nutritiv au capacitatea de a se fixa pe suprafața internă a recipientului de cultivare și de a se multiplica. Le putem obține din orice țesut embrionar de la animal sau om, deoarece celulele embrionare posedă o capacitate considerabilă de creștere și multiplicare. Mai frecvent culturile de celule primare se pregătesc din amestec de țesut osos, dermal, muscular.

Celulele culturilor primare, de regulă, își pot păstra viabilitatea câteva generații (5—6 pasaje).

După câteva pasaje ale culturii primare, uneori se formează așa-numita *cultură diploidă*, populație de celule fibroblastoide, care au capacitate sporită de multiplicare: suportă până la 30—60 pasaje, păstrând completul inițial de cromozomi.

Celulele diploide umane sunt foarte sensibile față de mai multe virusuri și se utilizează larg în virusologie.

S-au obținut culturi de celule diploide de origine umană, bovină, porcină, ca tulpinile WI-38, MRC-5, MRC-9, IMR-90 ș.a.

Culturile continui sau liniile celulare sunt stabile și pot suporta un număr nelimitat de pasaje. Ele provin din culturi de celule primare în urma variabilității genetice în procesul cultivării.

Liniile celulare au fost obținute din diverse țesuturi normale și canceroase de la om: din amnios (A-0, A-1, FI), rinichi (Rh, REU), carcinomul colului uterin (HeLa), o tumoră canceroasă a laringelui (Hep-2), din măduva osoasă a unui bolnav de cancer pulmonar (Detroit-6), rhabdomiosarcom de embrion uman (RD) ș.a. Ele se conservă congelate în azot lichid.

Cultivarea celulelor se efectuează în recipiente de sticlă sau masă plastică transparentă de diverse forme și dimensiuni, iar mediile de cultură utilizate conțin aminoacizi, vitamine, factori de creștere. Asemenea medii larg utilizate în virusologie sunt: 199, Eagle, hidrolizat de lactalbumină ș.a.

După destinație, mediile nutritive se divizează în medii de creștere și de întreținere.

Mediile de creștere, îmbogățite 2—30% cu seruri obținute de la om sau animale, se utilizează pentru cultivarea celulelor.

Mediile de întreținere se utilizează pentru păstrarea monostratului celular în procesul infectării cu virus. Aceste medii nu conțin ser sau îl conțin în cantități foarte mici. În medii se adaugă indicatorul roșu fenol, care virează la galben, dacă mediul devine acid.

Prepararea suspensiei de celule. Țesutul, spălat în soluția Hanks, se mărunțește cu foarfecel, apoi se adaugă 200—300 ml soluție de tripsină la 100 g țesut și se omogenizează amestecul în termostat pe un agitator magnetic.

Se centrifughează 5—10 minute suspensia de celule la 600 rpm. Se decantează supernatantul, se resuspendează sedimentul în mediu nutritiv și se determină concentrația celulelor în camera Gorjaev. Se diluează suspensia celulară cu mediul nutritiv până la concentrația de 400 000—800 000 celule/ml, apoi se repartizează în recipiente, care se închid cu dopuri de cauciuc și sunt termostatare pentru cultivare la 35—37°C timp de 48—96 ore, înclinate sub un unghi de 5°.

Pentru izolarea virusurilor se aleg eprubete cu un monostrat bine format, se decantează mediul nutritiv și se spală celulele de câteva ori cu soluție Hanks, pentru înlăturarea

anticorpilor din ser și a inhibitorilor. Apoi în fiecare eprubetă se inoculează câte 0,1—0,2 ml din materialul de examinat. După 30—60 minute de la inoculare se pipetează în eprubete câte 1 ml din mediul de întreținere și se introduc eprubetele în termostat la 37°C.

Urmărirea virusurilor în culturile de celule se face prin observarea efectului citopatic (ECP), prin reacția de hamadsorbție, prin fenomenul de interferență ș. a.

■ *Efectul citopatic (ECP).* Multiplicarea virusurilor în culturi de celule cauzează, de regulă, modificări degenerative și distrugere celulară, fenomen ce se numește efect citopatic. Asemenea virusuri sunt citopatogene. Efectul citopatic al virusurilor se manifestă prin rotunjire sau retracție celulară, dezintegrări ale organitelor celulare, apariția vacuolelor sau a granulelor în citoplasmă, picnoză nucleară, dezvoltare de incluziuni, fuziunea citoplasmelor cu formare de sinciții. Aceste modificări pot fi studiate la microscop pe celule vii necolorate. Deosebit ECP difuz, când celulele afectate sunt răspândite pe toată pânza de celule și ECP în focar, când între aglomerările de celule alterate rămân multă vreme zone de celule normale. Informații mai detaliate obținem prin colorația Giemsa, cu hematoxilineozină, cu acridină oranj.

Unele virusuri produc un ECP minim (greu diferențiat de alterările din culturile celulare vechi), altele se multiplică fără a produce ECP. În aceste cazuri detectăm prezența virusului prin alte metode, ca hemadsorbția, interferența.

■ *Hemadsorbția (HAds)* permite depistarea virusului, chiar înainte de dezvoltarea ECP, datorită apariției antigenului viral specific pe suprafața celulei infectate.

La cultura de celule (de control și infectată cu virus), după o perioadă de incubare, în funcție de virus, se adaugă 0,2 ml suspensie 0,5% de eritrocite, pentru a acoperi monostratul celular, și se menține 15—20 minute la temperatura de 4°C, 20°C sau 37°C, caracteristică pentru fiecare virus. Apoi se agită eprubetele, pentru a înlătura eritrocitele neadsorbite și se urmărește la microscop, cu obiectivul mic, aglomerarea eritrocitelor pe celule aparte sau pe tot monostratul celular.

■ *Interferența.* Unele virusuri (e. g. virusul rușei) nu produc ECP, dar determină un fenomen de interferență. Astfel pentru detectarea virusului rușei se infectează cultura de celule cu un virus citopatogenic. Lipsa multiplicării acestui virus confirmă cu mare probabilitate prezența în cultură a virusului rușei.

■ *Formarea de plaje.* Plajele sau coloniile negative sunt focare de celule alterate de virus în monostratul celular acoperit cu agar. Focarele de degenerare celulară, plajele, se pun în evidență prin colorarea cu roșu neutru: celulele distruse nu se colorează și le observăm ca pete incolore pe fondul roșu-roz al monostratului celular. Există și alte modalități de evidențiere a plajelor virale. Numărătoarea plajelor permite cuantificarea virusului infectant.

■ *Proba culorii.* În urma activității vitale a celulelor în mediul nutritiv se concentrează produse acide care modifică pH-ul (culoarea mediului trece din roșu în oranj-galben). Metabolismul celulelor infectate cu virusuri citopatogene este inhibat și pH-ul mediului nu se modifică (mediul păstrează culoarea roșie).

Izolarea virusurilor în ouă embrionate de găină. Virusurile se cultivă pe embrioni de găină de 6—15 zile. Aceștia sunt un sistem de celule constituit din țesuturi în dezvoltare, cu multiplicare activă, practic steril, lipsit de mijloacele apărării antiinfecțioase proprii animalelor adulte.

Pentru cultivare se inoculează, cu seringă, produsul de examinat în cavitatea amniotică sau alantoidiană, în sacul vitelin ori pe membrana corioalantoidiană.

Infectarea membranei corioalantoide (MCA). Se antiseptizează coaja oului cu iod și alcool, se perforază camera cu aer și, cu seringă, se depune pe MCA 0,1—0,2 ml din produsul patologic. Se obturează apoi orificiul din coajă cu parafină sterilă și se introduc embrionii în termostat în poziție orizontală.

Infectarea cavității alantoide. Se injectează materialul examinat, printr-un orificiu lateral al cojii, la adâncimea de 10—15 mm.

În cavitatea amniotică se injectează produsul examinat prin orificiul din partea boană a oului, îndreptând acul spre corpul embrionului.

Se parafinează orificiile de injectare și se incubează embrionii în termostat la temperatura de 35—37°C timp de 48—72 ore, în funcție de virus. Se răcesc apoi ouăle 18 ore la +4°C pentru o vasoconstricție maximă și, aseptice, se taie coaja pentru acces la embrion. Se recoltează cu seringă lichidul alantoic sau amniotic, iar membranele și embrionul se introduc în cutii Petri sterile.

Urmărirea virusului în embrionul de găină se poate face după unul din efectele replicării sale:

- Leziuni focale pe MCA: pete alburii, bombate, cu un diametru de 1—2 mm, numite *pock-uri*.

- Moartea embrionului.

- Apariția de hemaglutinine în lichidul alantoidian sau amniotic.

Reacția de hemaglutinare (RHA) este bazată pe capacitatea unor virusuri de a aglutina eritrocitele anumitor specii de mamifere sau păsări. Se efectuează calitativ sau cantitativ:

- reacția calitativă (de orientare) se face pe lamă;

- reacția cantitativă, prin care se află concentrația (titrul) virusului, se face prin diluții în tuburi sau pe plăci din material plastic cu godeuri.

Titrul virusului este diluția maximă a lichidului care aglutinează eritrocitele cu intensitatea +++ (vezi mai jos). Aceasta este o unitate hemaglutinantă (UHA).

Se efectuează diluții duble ale lichidului de examinat în 0,5 ml soluție salină izotonă. Apoi în toate eprubetele se adaugă câte 0,5 ml suspensie 1% de hematii, spălate de 3 ori cu soluție salină izotonă. Pentru control se amestecă 0,5 ml hematii cu un volum egal de diluant. În funcție de virus (caracterele hemaglutininei), incubarea amestecului se face la 37°, 20° sau 4°C.

Rezultatele reacției se citesc după 30—60 minute și sunt apreciate cu plusuri: «++++»

— hematii aglutinate complet într-o peliculă depusă pe tot fundul eprubetei sau godeului, cu margini festonate («umbrelă»); «+++» — peliculă de hematii neuniformă; «++» — hematii sedimentate și peliculă de aglutinat puțin pronunțată; «+» — un sediment floconos; «—» — hematii sedimentate în buton bine conturat identic cu cel din control (martor).

Izolarea virusurilor pe animale de laborator. Animalele de laborator se folosesc în virusologic cu următoarele scopuri:

- diagnosticul infecțiilor virale;

- obținerea serurilor imune antivirale;

- reproducerea infecțiilor virale pentru studierea patogeniei, imunității, morfopatologiei etc. (modele experimentale);

- elaborarea metodelor specifice și nespecifice de profilaxie și tratament.

Experimentarea pe animale de laborator este costisitoare și are o serie de dezavantaje: unele infecții nu pot fi reproduse, infecții latente reactivitate prin inocularea animalelor ș.a. De aceea această metodă, când este posibil, se înlocuiește cu tehnici mai economice, mai rapide, cu rezultate constante.

Mai frecvent se utilizează șoareci nou-născuți.

Regulile de lucru cu animalele de laborator în infecții virale sunt identice cu cele din infecțiile bacteriene.

2. Identificarea virusurilor se efectuează cu ajutorul serurilor specifice antivirale în reacția de neutralizare (RN), reacția de inhibare a hemaglutinării (RIHA), reacția de inhibare a hemadsorbției (RIHAds), reacția de imunodifuzie (RID), reacția de fixare a complementului (RFC), testul ELISA, ARI ș.a.

Reacția de neutralizare se bazează pe neutralizarea, în sisteme vii, receptivă, a acțiunii infecțioase și citopatice a unui virus dat. Ca sistem biologic pot servi culturile de celule, oul de găina embrionat, animalele de laborator.

Din materialul ce conține virus se pregătesc diluții succesive la care se adaugă ser specific diluat conform titrului indicat pe eticheta fiolei. Cu amestecul incubat 30—60 minute la 37°C se infectează sistemul biologic.

Drept control servește același sistem biologic infectat cu virus în amestec cu ser normal.

Se apreciază RN ca pozitivă dacă în culturile de celule lipsește ECP, nu apar modificări în embrionul de găină, animalele receptivă nu se îmbolnăvesc și nu mor.

Pe baza rezultatelor RN se calculează *indicele de neutralizare*: raportul dintre titrul virusului în sistemul de control (unde se mai produce ECP ș.a.) și titrul virusului în experiment. Indicele de neutralizare mai mic de 10 semnifică o reacție negativă; de la 11 la 49 o reacție echivocă, iar mai mare de 50 o reacție pozitivă. Prin RN se apreciază cu certitudine specia și serovarul virusului izolat.

Reacția de inhibare a hemaglutinării se bazează pe inhibarea hemaglutininei virale de către anticorpii specifici din serul imun; în consecință aglutinarea eritrocitelor nu se mai produce. Reacția se efectuează în eprubete sau pe plăci din masă plastică cu godeuri.

Se pregătesc diluții duble succesive ale serului imun de referință în volume de 0,25 ml, conform titrului indicat pe etichetă. Apoi la fiecare diluție se adaugă câte 0,25 ml antigen (material virotic) titrat în doza de lucru (8 UA/0,25 ml). După ce se menține amestecul o oră la temperatura camerei, se pipetează în fiecare eprubetă (godeu) câte 0,25 ml suspensie 0,5% de eritrocite.

Se citesc rezultatele după 1—2 ore de păstrare a reacției la temperatura camerei.

Însoțim reacția cu următorii martori:

- al eritrocitelor: 0,5 ml soluție salină izotonă + 0,25 ml suspensie 0,5% de eritrocite;
- al serului: 0,25 ml ser imun de referință + 0,25 ml soluție salină izotonă + 0,25 ml suspensie eritrocitară;
- al specificității antigenului: 0,25 ml antigen + 0,25 ml ser de referință + 0,25 ml suspensie eritrocitară.

Reacția de inhibare a hemadsorbției. Sub acțiunea serului imun specific, virusul hemadsorbant din cultura de celule este blocat și la adăugarea eritrocitelor acestea nu mai sunt adsorbite pe suprafața celulelor infectate.

Din tuburile cu celule infectate, se varsă mediul de întreținere și se spală cultura de celule cu soluție Hanks, pentru a înlătura substanțele proteice ale mediului, apoi se adaugă câte 0,2 ml ser imun antiviral diluat 1:5 și 1:10, după care se mențin eprubetele înclinate 15—20 minute la temperatura camerei. În final se adaugă câte 0,2 ml suspensie 0,5% de eritrocite. În tuburile de control se introduce ser normal și suspensie eritrocitară. După 20—30 minute de incubare la temperatura optimă pentru hemadsorbție, citim rezultatele.

Specia virusului se apreciază pe baza lipsei adsorbției eritrocitelor în tuburile de experiență în prezența hemadsorbției în tuburile de control.

Alte reacții utilizate pentru identificarea virusurilor, RFC, RID, ELISA, ARI au fost descrise în alte capitole și detaliile lor tehnice nu diferă în virusologie.

42.3. METODELE SEROLOGICE ÎN DIAGNOSTICUL VIROZELOR

Metodele serologice, bazate pe reacțiile antigen-anticorp, au largă răspândire în diagnosticul virozelor. Ele sunt simple, standardizate și permit examinarea unui număr considerabil de probe într-un timp relativ scurt.

Folosim aceleași reacții descrise pentru identificarea virusurilor izolate și, cu ajutorul unor baterii de antigeni virali, putem determina creșterea titrului de anticorpi specifici în serurile perechi (recoltate la debutul bolii și după 2—4 săptămâni).

Mai răspândite în serodiagnosticul virozelor sunt: RFC, RIHA, RN, RIHAds, ELISA, ARI, RIF.

Se examinează serurile perechi în paralel, începând cu diluția 1:10. Semnificativă pentru o infecție recentă este creșterea titrului anticorpilor specifici de cel puțin 4 ori în serul al doilea față de primul.

Anticorpii din clasa IgG sunt depistați după 2 săptămâni de la debutul virozei și persistă timp îndelungat, pe când cei din clasa IgM apar precoce (în zilele 3—5 de boală) și dispar peste câteva săptămâni. De aceea depistarea anticorpilor IgM dovedește cert că este vorba de o infecție recentă, chiar dacă examinăm un singur ser prelevat în perioada acută a bolii. Metodele actuale permit identificarea anticorpilor din clasa IgM utilizând seruri specifice anti-IgM.