
DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL VARIOLEI

53.1. DATE GENERALE

Virusul variolei este unul din cele mai mari virusuri. Virionul are aspect de cărămidă cu colțurile rotunjite și dimensiuni de 300—450 nm lungime/170—250 nm lățime. Un înveliș lipoproteic extern include, flancat de doi corpi laterali și înconjurat de o membrană internă, miezul, care conține genomul ADN d. c. și enzime implicate în replicare. Funcția corpiilor laterali rămâne necunoscută.

Virusul variolei umane este o specie a genului *Orthopoxvirus* din familia *Poxviridae* (engl. *pock* = pustulă; virusuri care provoacă pustule). Are două variante: una determină imboănăviri grave, *variola major*, cu mortalitate de până la 40%, iar cealaltă mai benignă, *variola minor* sau alastrim, cu mortalitate sub 1%.

În afara virusului variolei umane (în prezent eradicat), genul *Orthopoxvirus* mai cuprinde virusul variolei maimuțelor, care poate infecta accidental omul; virusul vaccinal, care infectează vacile și imunizează încrucișat cu virusul variolei. Virusul vaccinal este folosit ca vaccin antivariolic viu atenuat, pentru că determină la omul normal o infecție minoră, localizată.

Receptivitatea omului la variolă era generalizată și maximă.

Variola este o boală infecțioasă extrem de contagioasă, caracterizată prin toxemie intensă și o erupție veziculopustuloasă urmată de cicatrice. *Variola major* are mai multe forme clinice:

- Forma confluentă, caracterizată prin confluența elementelor eruptive cu formarea unor vezicule umplute cu puroi.
- Forma hemoragică, întâlnită în două variante: hemoragică pustuloasă și purpura variolică, formă severă, cu mortalitate de 100%.
- Forma varioloidă, o formă ușoară la vaccinați.

53.2. INVESTIGAȚIA ETIOLOGICĂ A VARIOLEI

53.2.1. Diagnosticul direct

53.2.1.1. Prelevate patologice

Se examinează: conținutul veziculelor, pustulelor, cruste de pe piele și membranele mucoase, exsudat nazofaringian, sânge. În cazuri letale se prelevă probe necroptice din tegumente lezate, plămân, splină.

53.2.1.2. Diagnosticul rapid

Antigenul viral se evidențiază prin RIF, RIHAI, RID sau ELISA. Pe amprentele din vezicule și pustule, colorate prin impregnație argentică după Morozov, putem observa incluziuni paranucleare Guarnieri, 1—2 sau mai multe per celulă, cu diferite forme și dimensiuni.

Microscopia electronică a prelevatelor patologice pune în evidență virioni cu morfologie tipică.

În RIHAI antigenul din materialul examinat reacționează cu imunoglobulinele antivariolice fixate de eritrocite de berbec și le aglutinează.

Prin RID depistăm în prelevatele patologice antigenul care reacționează cu ser imun antivariolic. Concentrația minimă de antigen depistată prin această reacție este de 10^4 unități formatoare de *pock-uri/ml*.

Testul ELISA poate fi utilizat în variantele directă și indirectă.

53.2.1.3. Izolarea virusului

Izolarea virusului din prelevatele patologice se face prin infectarea ouălor embrionate de găină sau a culturilor de celule. Ambele metode sunt sensibile.

Embrionii de găină de 11—12 zile sunt infectați, prin metoda închisă, pe membrana corioalantoidiană (MCA). După 3—5 zile de incubație la 35°C , pe MCA apar focare mici, alburii, dense, bine conturate, proeminente «în cupolă» (*pock-uri*), înconjurate uneori de o zonă transparentă. Aceste *pock-uri* diferă de cele formate de virusul vaccinei, care sunt mari de 3—5 mm, plate, cu margini festonate, de culoare gălbuie.

În cazul virusului variolic nu survine moartea embrionului, virusul vaccinei îl omoară după 3—5 zile de la infectare.

Identificarea virusului izolat se face prin RN pe ouă embrionate, RFC, RIHA cu eritrocite de găină. Tulpinile de virus variolic proaspăt izolate au activitate hemaglutinantă slabă.

Culturi de celule mai sensibile pentru izolarea virusului variolic sunt liniile continue HeLa, Hep, FL, în care provoacă, după 3—4 zile, efect citopatic manifestat prin focare de celule proliferate, bine conturate. Virusul vaccinal dă efect citopatic peste 24 ore cu formare de celule gigante și sinciții. La temperatura de $39\text{—}40^{\circ}\text{C}$ virusul variolic, spre deosebire de cel vaccinal, nu este replicat.

Identificarea virusului izolat în culturi de celule se face prin RIF, RIHAI, RID.

Se recomandă și *testul Paul*: inocularea materialului din leziunile tegumentare de la bolnav pe corneea de iepure scarificată. În cazul variolei, după 1—2 zile, apar vezicule sau se pun în evidență incluziuni Guarnieri.

53.2.2. Diagnosticul serologic

Pentru diagnosticul serologic al variolei se urmărește dinamica anticorpilor antivariolici prin RIHA, RFC sau RN pe embrioni de găină sau în culturi de celule cu seruri pereche inactivate 30 minute la 56°C . Toate reacțiile sunt sensibile.

Anticorpii inhibitori ai hemaglutinării apar după 5—6 zile de boală și titrul lor crește în următoarele 1—2 săptămâni. Pentru RIHA se utilizează ca antigen suspensie din MCA a embrionilor de găină infectați cu virus vaccinal sau antigen hemaglutinant standardizat.

În RFC și RN se folosesc ca antigen extracte preparate din MCA sau culturi de celule

congelate și decongelate de trei ori. În RN se urmărește anularea efectului citopatic și hemadsorbției în culturi de celule sau a formării *pock*-urilor pe MCA a embrionilor de găină.

53.2.3. Preparate pentru diagnostic, profilaxie și tratament

- Antigen standardizat pentru RIHA.
- Eritrocite sensibilizate cu imunoglobuline antivariolice pentru identificarea antigenului prin RIHA.
- Trusă pentru RID.
- Imunoglobulina antivariolică administrată intramuscular (3—6 ml) în scop terapeutic.
- Vaccin atenuat antivariolic. În prezent nu este utilizat pentru că variola este o boală eradicată.