

DIAGNOSTYKA OSPY

ANTON MAYR

Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere in Tübingen a. N.
Związkowy Instytut Badawczy Chorób Wirusowych Zwierząt w Tübingen

Ospa ludzka wskutek powszechnych szczepień zapobiegawczych w Europie straciła całkowicie charakter ciężkiego schorzenia epidemicznego. Przed okresem Jennerowskim wyrządzała ona w populacji ludzkiej olbrzymie spustoszenie: co czwarte dziecko padało jej ofiarą. Dzisiaj lekarze nie stykają się już bez mała wcale z tą niebezpieczną chorobą. Ospa stała się chorobą krajów tropikalnych Afryki, Azji i Płd. Ameryki, a o jej istnieniu przypominają nam w Europie tylko wypadki okolicznościowe.

Często słyszy się jeszcze pytanie, czy dzisiaj ospa stanowi dla ludzi jakiegokolwiek zagrożenie? Negatywna odpowiedź na to pytanie byłaby karygodnym błędem. Ciągle jeszcze aktualna jest stara ekloga ludowa, że „każdy kraj ma taką ospę, na jaką zasługuje”.

To że ospa zniknęła z Europy, nie jest wynikiem zmiany charakteru zarazy ani też zmiany w przebiegu choroby u poszczególnych osobników, nie jest też wynikiem poprawy warunków higienicznych. Jest to jedynie zasługą pozytywnych wyników szczepień przeciw ospie wprowadzonych przez Jennera. Skoro tylko zaniedba się akcji szczepień, i to sumiennie przeprowadzanej, trzeba będzie liczyć się z ponownym pojawieniem się tzw. ospy prawdziwej. Niebezpieczeństwo zawleczenia ospy jest w tej chwili znacznie większe niż dawniej. Współczesne środki komunikacji przerzucające podróźnych ewentualnie wraz z zarazkami w ciągu kilku godzin z jednego kontynentu na drugi stanowią nie byle jakie zagrożenie.

Tym samym musi być brana pod uwagę sytuacja epidemiczna nie tylko w Europie, ale na całym świecie. Nadal jeszcze istnieją na świecie ośrodki ospy o charakterze endemicznym, z których zarazek ospy może się przedrzeć i wniknąć z kolei do krajów Europy. Największe ogniska ospy istnieją w Indiach, w Pakistanie, w Kongo, w Nigerii, Kolumbii i Ekwadorze.

Prócz tego istnieją kraje, w których wprawdzie z powodzeniem zwalczają się ospę, lecz w których rokrocznie pomimo tego sporadycznie wystę-

pują liczne przypadki zachorowań pojedynczych osobników. Są to niektóre kraje Ameryki Południowej i Środkowej, Bliskiego Wschodu i Południowo-Wschodniej Azji. Typowymi terenami dla alastrim są Kolumbia, Ekwador i część Ameryki Południowej.

To, że ospa u osób nieszczepionych przebiega dzisiaj jeszcze tak samo groźnie, jak podają dawne opisy arabskie, znajduje potwierdzenie w tych sporadycznych wybuchach choroby w ostatnich latach w Europie, które nakazują daleko idącą czujność. W Niemczech pojedynczy przypadek zachorowania na ospę zanotowano po wojnie w Hamburgu w 1957 r., a w Berlinie w 1959 r.; w Heidelbergu w 1958/59 zanotowano 20 zachorowań; w Ansbach w 1961 r. — 4 zachorowania, dwa następne przypadki w 1962 r. w Düsseldorfie, względnie w Simmerath. Wszystkie te przypadki wystąpiły wskutek zawleczenia przez osoby, które chorowały z objawami ospy.

Najlepszą ochroną przeciwko ospie jest powszechne szczepienie. Ponieważ jednak żadna populacja nie nabiera stuprocentowej odporności, jest konieczna obok szczepień stała czujność, która by pozwoliła na natychmiastowe wykrycie i rozpoznanie choroby, co z kolei pozwalałoby na wydanie w porę odpowiednich zarządzeń przeciwepidemicznych. Jest to tym ważniejsze, że obawa przed komplikacjami poszczepiennymi spowodowała pewne zaburzenia w ciągłości zapobiegawczej akcji szczepiennej. Szybkie i pewne rozpoznanie jest podstawowym warunkiem akcji zwalczania ospy. Chciałbym pokrótce poinformować o naszych doświadczeniach dotyczących klinicznego i laboratoryjnego rozpoznawania ospy.

Rozpoznawanie kliniczne

W przypadku ospy niemal zawsze występuje charakterystyczna osutka, w związku z czym większość przypuszcza, że rozpoznanie kliniczne nie jest trudne. Ci, co tak sądzą, mylą się jednak poważnie. W diagnostyce *variolois*, *alastrim* i *varioli*, które przebiegają w rozmaitych postaciach, klinicznie pewne rozpoznanie jest często niemożliwe i klinicysta domaga się pomocy ze strony laboratorium. Wobec poważnych konsekwencji, jakie pociąga za sobą zarządzenie kwarantanny, szybkość i pewność wypowiedzi diagnostycznych posiada olbrzymie znaczenie. Każda godzina jest droga.

W czasie ostatniej europejskiej epidemii ospy początkowo wchodziły w grę głównie zachorowania osób uprzednio szczepionych, a zatem częściowo odpornych, postaci obserwowanych objawów chorobowych często odbiegały i to znacznie, od przyjętych, wyuczonych obrazów (różne okresy wylegania choroby, różnice jakościowe i ilościowe itp.). Dlatego też często nie można było postawić zdecydowanego i szybkiego rozpoznania klinicz-

nego. Bez natychmiastowej pomocy laboratorium szybkie rozpoznanie ospy w ogóle byłoby niemożliwe.

W normalnym przebiegu, ospa jako variola discreta rozpoczyna się po okresie wylegania 12—14 dni, przebiegając tak jak wszystkie zakaźne cykliczne choroby wirusowe, w których starcie się wirusa z gospodarzem, tak istotne w swych następstwach, nastąpiło już w okresie wylegania z nieznacznymi, charakterystycznymi objawami jak: złe samopoczucie, zawroty głowy, osłabienie, bóle głowy i krzyża, nieznaczne zaburzenia żołądkowo-jelitowe.

W chwili wystąpienia gorączki, która wzrasta do 40—41°C, złe samopoczucie ulega nasileniu. Obserwuje się zaczerwienienie twarzy, nastrzykanie naczyń krwionośnych, skóra jest gorąca i sucha. Występują mdłości, silne bóle głowy i kończyn, w tym bóle łędźwi i jąder. Ten początkowy okres choroby utrzymuje się około 3 dni i może w niektórych przypadkach być skojarzony z nieznaczną osutką, która ma charakter rumieniowy, wykazuje pewne zróżnicowanie lub też może mieć charakter wybroczynowy na podłożu rumieniowym. W tym okresie rozpoznanie choroby jest jeszcze niemożliwe. Z punktu widzenia rozpoznania różnicowego wchodzi w rachubę różne choroby zakaźne, w szczególności zaś odra, szkarlatyna i posocznica na tle zakażenia meningokokami.

Pod koniec 3 dnia okres początkowy przechodzi w stadium erupcji, wykwitów, przy równoczesnym spadku temperatury i cofaniu się objawów ogólnych. W tym okresie rozpoznanie ospy na podstawie obrazu chorobowego jest stosunkowo proste.

Plamy stopniowo przechodzą w grudki, a w 5 dniu choroby w pęcherzyki, wreszcie między 6—8 dniem w krosty. W środkowej części krosty zazwyczaj znajduje się charakterystyczne pępokowate wgłębienie (środkowa martwica wyrodniających komórek naskórka). Grudki są zwykle bardzo jędrne i głęboko tkwią w skórze. Pierwsze wykwitki ukazują się na skórze czoła, nosa i górnej wargi, a następnie przechodzą na pozostałe części twarzy i owłosione okolice głowy. Również muszla ucha jest zawsze zajęta osutką ospową. W przypadku łysiny skóra głowy jest zwykle silniej zaatakowana. Z kolej osutka zajmuje kończyny, w pierwszym rzędzie skórę nadgarstka i przedramion, następnie skórę pasa barkowego, w mniejszym stopniu piersi i grzbietu, a w końcu — kończyn dolnych. Pęcherze występują najliczniej na twarzy i na nieokrytych częściach rąk i nóg.

Zajęte są również jądra i członek względnie pochwa, zawsze — dłonie i podeszwy. Na tych terenach, na których ospa panuje endemicznie, to właśnie umiejscowienie zmian ospowych uważa się za typowe do tego stopnia, że w przypadkach niepewnych oględziny podeszwy uważane są za wystarczające do rozpoznania ospy. Występujące na dłoniach i na podeszwach wykwitki nie mają normalnego charakteru pęcherzy ospowych,

pojawiają się jedynie twarde nacieki nieznacznie unoszące się ponad poziom skóry, co uzależnione jest od swoistego utkania skóry w tych miejscach.

Umieszczenie osutki ospowej okazuje się bardzo pomocne w rozpoznawaniu różnicującym. Bez względu na nasilenie można zasadniczo przyjąć, że kolejne pojawianie się osutki w silniejszym stopniu zaznacza się na górnych odcinkach ciała aniżeli na dolnych, intensywniej na czole aniżeli na pozostałych częściach twarzy, intensywniej na twarzy aniżeli na owłosionej części głowy, intensywniej na głowie i twarzy aniżeli na tułowiu, intensywniej na ramionach aniżeli na kończynach dolnych. Kończyny po stronie przyśrodkowej są mniej pokryte osutką aniżeli po stronie wyprostnej.

Skokowe narastanie zmian chorobowych jest bardzo charakterystyczne. Jest ono następstwem falisto przebiegającej i powoli wyczerpującej się wirusemii. W okresie, w którym pierwsza seria wykwitów plamistych przechodzi w grudki i z kolei w pęcherze, pojawia się drugi, trzeci, a może jeszcze i następny rzut. Pojedyncze wykwity na nowo zajętych odcinkach skóry rozwijają się bardzo jednostajnie. Każde następne umiejscowienie przechodzi przez kolejne stadia z coraz to większym przyspieszeniem, tak że około 5—6 dnia wysypka jest jednolicie dojrzała.

Jedną z prawidłowości ospy jest to, że nawet w najłżejszych postaciach twarz nie jest oszczędzana przez wykwity. Drugą prawidłowością jest to, że małe powierzchnie okolicy pachowej i pachwinowej pozostają wolne od wyprysku nawet w przypadkach najbardziej rozległych zmian w postaci zlewających się krost, którym towarzyszy obrzęk skóry, znajdującej się pomiędzy poszczególnymi krostami.

Wraz z rozwojem stadium krostowego dochodzi do wtórnych procesów zapalnych, w które wciągnięte są okoliczne miejsca skóry. Przy narastającej temperaturze występują równocześnie ciężkie ogólne objawy, które prowadzą do śmierci.

Jeżeli pacjenci pozostają przy życiu, to gorączka opada schodkowo, następuje stadium wysychania krost i tworzenie się strupów.

Nie zawsze jednak ospa przebiega w ten sposób, charakterystyczny dla *variola discreta*.

Przy *variola confluens* i *semiconfluens* występują pęcherze zlewające się wzajemnie.

Niejednokrotnie na większych powierzchniach skóry powstaje zlewająca się pokrywa krostowa. W ten sposób zlewające się zmiany występują szczególnie na obwodowych częściach kończyn oraz na twarzy. Zdarza się także zlane krosty obejmują bardzo duże powierzchnie ciała, tak że znalezienie pojedynczych krost staje się nawet trudne, choć zazwyczaj na obwodzie pola będącego wynikiem zlania się krost występują krosty poje-

dyncze. Ta postać ospy towarzyszy przebiegowi średnio ciężkiemu i ciężkiemu.

W przypadkach ospy wtórnie krwiotocznej (*variola pustulosa haemorrhagica*) występują wtórnie zaburzenia o charakterze krwiotocznym, które niemal zawsze mają ciężki przebieg. Tę ciężką postać choroby rozpoznaje się już zwykle w początkach występowania osutki. Gęsto obok siebie leżące grudki tworzą drobne, płaskie, zlewające się pęcherze, w których nie dochodzi jednak do typowego dojrzewania, jak w innych postaciach ospy: osutka jak gdyby zatrzymuje się w swoim rozwoju. Ta postać odpowiada angielskiemu określeniu „suppressed form”, czyli „ospie astenicznej”. Między 6—10 dniem choroby rozpoczynają się wtórne krwawienia do pęcherzyków. Krwawienia te mogą ustać lub występuje ogólna skaza krwiotoczna cechująca się krwawieniami z błon śluzowych, z jamy ustnej, nosa, narządów rozrodczych i innych.

Specyficznym przebiegiem wyróżnia się tzw. *variola pierwotnie krwiotoczna* (*purpura variolosa*). Ta postać ospy jest najcięższa i zazwyczaj kończy się niepomyślnie. Okres wylegania jest zwykle skrócony. Choroba rozpoczyna się zwykłymi objawami ogólnymi: gorączką, bólami głowy, krzyża itp. Już w tej fazie choroby dochodzi do wystąpienia skazy krwiotocznej. Wczesnymi objawami są krwawienia podspojówkowe i osutka wybroczynowa (*rash*). Z kolei występują krwawienia we wszystkich błonach śluzowych, z jamy ustnej, z nosa i narządów płciowych. Występują również krwawienia w narządach wewnętrznych. Charakterystyczne dla ospy stadium krostowe nie występuje, ponieważ chory wcześniej umiera. Dotąd żaden z pacjentów nie przeżył tej najcięższej postaci choroby.

Godne podkreślenia jest występowanie *purpura variolosa* u osób szczepionych, na co zwrócił już uwagę Pirquet. Mogliśmy potwierdzić zagrożenie tą postacią u osobników będących w ciąży. Badania patogenetyczne i serologiczne wskazują na to, że przy powstawaniu pierwotnie krwiotocznej postaci ospy ujawniają się procesy alergiczne w decydującej mierze.

Dla zobrazowania całokształtu sprawy należy się jeszcze zająć dwoma innymi schorzeniami ospowymi, a mianowicie *alastrim* i *variolois*.

Na *alastrim* (*variola minor*) zwrócono uwagę po raz pierwszy na przełomie XIX i XX wieku. W przeciwieństwie do *variola maior* „łagodna ospa” wykazuje śmiertelność tylko małego stopnia określaną na 0,5—2% (tab. 1). Dzisiaj uważa się *alastrim* za samodzielną jednostkę chorobową, która jednak na razie udaje się różnicować tylko w oparciu o dochodzenie epidemiologiczne. Kliniczny obraz jest bardzo zbliżony do łagodnego przebiegu *variola maior*. W przebiegu *variola maior* liczba krost wskazuje na ciężki przebieg choroby, podczas gdy w przypadku *alastrim* nawet bardzo rozległa osutka nie ma wpływu na przebieg schorzenia. Krosta *alastrim*

Tabela 1

Podstawy różnicowania wirusów *Variola* — *Alastrim* — *Vaccinia*

Błona komórkowo-omoczniowa (CAM)				Zarodek			
rozpoznanie w dniu	optymalna temperatura wyłęgania	wygląd ognisk	miano wirusa w CAM	hodowla w jamie omoczniowej	namnożenie	śmiertelność w 4 dniu 1000 EID	wirus w wątrobie
<i>Variola</i> (2.)	—3 35—36°C	guzki w ekto-dermie 1—2 mm	10 ⁶	neg.	dobre	50%	10 ⁴ —10 ⁵
<i>Alastrim</i>	3 35—36°C powyżej 38°C nie rośnie	jak wyżej	10 ⁴ — 10 ⁵	neg.	słabe	20%	do 10 ²
<i>Vaccinia</i> (2.)	—3 35—38°C	plaskie szerokie ognisko z centralną martwicą 2—3 mm	10 ⁶ — 10 ⁷	+	bardzo dobre	100%	10 ⁶ — 10 ⁷

„siedzi” na skórze, a nie jak krosta ospy w skórze. Pęcherz ospowy nie wykazuje obecności charakterystycznego pępkowatego zagłębienia.

Wirus *alastrim* jest blisko spokrewniony z wirusem *variola*. Oba wirusy udaje się zróżnicować jedynie bardzo skomplikowaną metodą laboratoryjną.

Specjalną postacią jest *variola sine exanthemate*. Jest to schorzenie *variola* albo *alastrim* bez stadium wykwit. Przy tej wyjątkowo rzadkiej postaci proces chorobowy obejmował w pierwszym rzędzie drogi oddechowe. W doświadczeniach zakażenia *variolą* b. młodych myszek udawało się wykazać, że wirus ma specjalne powinowactwo do dróg oddechowych. *Variola sine exanthemate* z punktu widzenia epidemiologicznego posiada doniosłe znaczenie, ponieważ bywa najczęściej nierozpoznawana.

Z kolei rzucimy okiem na tak ważną dla naszych krajów postać *variolois*. *Variolois* jest ospą osobnika szczepionego. Pewien stopień posiadanej resztkowej odporności modyfikuje i charakteryzuje to schorzenie. Przeważnie przebiega ono szybciej i łagodniej aniżeli ospa. Samopoczucie jest mało zmienione — pacjent nie czuje się chory. Osutka ospowa może być słabo zaznaczona, a nawet przeoczona. Jeżeli wystąpi bardziej wyraziście, to u danego osobnika stwierdza się rozmaite stadia rozwoju ognisk ospo-

wych. Ten typowy dla *variolois* pstry obraz utrudnia rozpoznanie różnicowe w stosunku do *varicella* (ospa wietrzna). Można też pomylić go z trądzikiem, np. wówczas gdy u dobrze uodpornionego osobnika występują tylko grudki. Grudki trądziku nie wykazują jednakowoż znamiennej twardości, nie wykazują kolejnych form rozwojowych ani też swoistego dla ospy umiejscowienia, a wreszcie — tak ważnej w tym przypadku fazy wstępnej.

Obok plamistej osutki występują grudki i już pełnorozwinięte krosty i strupy. Tylko w nielicznych przypadkach gwałtowne objawy wstępne panują nad obrazem chorobowym. Możliwe, że wchodzi tutaj w grę objawy alergiczne, które posiadają jakiś związek z najcięższą postacią ospy, obserwowaną również u szczepionych, tj. z postacią pierwotnie krwiotoczną. Chory na *variolois* wydziela mniej wirusa aniżeli chory na ospę i jest w mniejszym stopniu siewcą zarazka w stosunku do otoczenia.

Podsumowując można stwierdzić, że pomiędzy *variolois* i ospą istnieją zasadnicze różnice immunologiczne, kliniczne i epidemiologiczne.

Variolois jest w Europie chorobą specjalnie ważną. Zawleczenie ospy do naszych krajów w przebiegu ostatnich lat następowało przez osoby, które wykazywały tylko obraz kliniczny *variolois*, a zatem schorzenia ospowego człowieka częściowo uodpornionego. Ponieważ *variolois* trudno daje się rozpoznać klinicznie, przeto w Europie dla prawidłowego rozpoznania choroby jest się zdaniem przeważnie na pomoc laboratoriów.

Rozpoznawanie laboratoryjne

Rozpoznawanie ospy w danym materiale sprowadza się do wykazania czynnika zakaźnego i określenia jego cech charakterystycznych. Obecność zarazka może być wykazana rozmaitymi drogami, a mianowicie:

- 1) przez hodowlę
- 2) przez wykazanie zarazka drogą zwykłego badania mikroskopowego lub elektronowo-mikroskopowego
- 3) przez wykazanie antygenu charakteryzującego wirus.

Jako materiał do hodowli wyjściowej nadaje się najlepiej płyn surowicy (Reizserum) uzyskany z uległej zmianom skóry, wolny od krwi, pobrany w stadium wysiewu albo też w stadium występowania plamek i grudek, zawartość pęcherzyków i krost (wysuszyć na szkiełkach podstawowych, pobrać do rurek włosowatych), ścianka pęcherzy oraz strupy. Dodatkowo pobiera się popłuczynę z gardła, choć wg dotychczasowych naszych doświadczeń nie ma ona dla rozpoznania ospy większych walorów od materiału pobranego ze skóry. Nie należy też rezygnować z próbek pełnej krwi oraz surowicy, zwłaszcza w początkowym okresie choroby.

Prócz wykazania obecności czynnika zakaźnego można rozpoznać chorobę przez wykazanie swoistych dla ospy przeciwciał w surowicy pacjenta.

Najpewniejszym rozpoznaniem jest stwierdzenie obecności zarazka ospy drogą hodowli (tab. 2, 3). Z wszystkich znanych metod hodowlanych uważa się powszechnie hodowlę na błonie omoczniowo-kosmówkowej zarodka kurzego jako najbardziej czułą i najbardziej godną zaufania. W hodowli na zarodku jaja można uchwycić obecność wirusa ospy poczynając od stadium początkowego aż do okresu wytworzenia się strupa, a ponadto można przeprowadzić różnicowanie pomiędzy wirusem ospy, *vaccinia* i *herpes simplex*, w oparciu o morfologię ognisk na wspomnianych błonach. Jest również możliwe przeprowadzenie rozpoznania różnicującego w stosunku do *varicella* i odry, ponieważ zarazki obydwóch wymienionych chorób nie tworzą ognisk w prymokulturze na błonie omoczniowo-kosmówkowej. Wreszcie hodowla w jaju w pewnych okolicznościach pozwala na zróżnicowanie pomiędzy wirusem ospy i alastrim.

Tabela 2

Różnicowanie wirusów ospy

Namnożenie w hodowli	Ogniska na rogówce królika	Namnożenie w organizmie zwierzęcia laboratoryjnego	Obraz w mikroskopie elektronowym
trochę słabsze i powolniejsze niż u <i>vaccinia</i>	+ (3.)—4 dzień	tylko noworodki mysie	ogniska pojedyncze, rozrzucone
powolniejsze niż przy ospie	+ (3.)—4 dzień	jak wyżej	jak wyżej
bardzo szybkie i dobre	+ 3. dzień	u wszystkich zwierząt laboratoryjnych	w łańcuszkach albo większych skupiskach

Wirus ospy rozmnaża się na błonach zarodka kurzego * z wytworzeniem typowych ostro od otoczenia odgraniczonych ognisk ospowych. Ogniska pierwotne przedstawiają się jako drobne, białe guzki usadowione na ektodermie, otoczone wąskim pasem zmętnienia; wykazują one budowę koncentryczną i mają szerokość 1—2 mm. Entodermalna strona CAM prawie nie bierze udziału w wytworzeniu ogniska pierwotnego między 2—3 dniem, tak że pod guzkiem ospowym mogą przebiegać nieuszkodzone drobne naczynia krwionośne. Widoczne uogólnienie procesu chorobowego nie występuje jako zjawisko stałe, a przynajmniej ma różne nasilenie.

* Błona kosmówkowo-omoczniowa — Chorio-allantois-membrana (CAM).

Tabela 3

Rozpoznawanie laboratoryjne przy podejrzeniu ospy

Okres choroby	Rodzaj próby	Metoda	Czas potrzebny na wykonanie	Spodziewane wyniki	Potwierdzenie wyniku w przypadku	
					dodatnim	ujemnym
Początkowy	krew pełna	E: zakaż. na CAM	2—3 dni	V neg.—2,0	+++	○
	surowica	S: ZHA	3 godz.	TO — 128	○	○
Plamisto-grudkowy	krew pełna	E: zakaż. na CAM	2—3 dni	V neg.—2,0	+++	○
	surowica	S: ZHA	3 godz.	TO — 128	○	○
	zawartość grudki	E: zakaż. na CAM	2—3 dni	V d 0,3	+++	++
		ME	2 godz.	±	○—++	○
		MŚ	2 godz.	±	○—+	○
		KC	3—4 dni	±	○—++	○
		OWD	3 godz.	±	○—++	○
	popłuczyny gardła	E: zakaż. na CAM	2—3 dni	V neg.—1,5	+++	○
	surowica	S: ZHA	3 godz.	TO — 128	○—+++	○
	Pęcherzykowy	treść pęcherzyka	E: zakaż. na CAM	2—3 dni	V d 7,0	+++
ME			2 godz.	+	++	+++
MŚ			2 godz.	+	+—++	○
KC			3—4 dni	+	○—++	○
OWD			3 godz.	+	+++	○

Ostateczne rozpoznanie jest możliwe w ciągu 48—72 godzin. W tym czasie można z całą pewnością zróżnicować pierwotne ognisko ospy w stosunku do ognisk *vaccinia*. Pierwotne ogniska *vaccinia* są płaskie, rozleglejsze (2—3 mm) i charakteryzuje je wyraźna martwica środkowa sięgająca głęboko w obręb mezodermy. W przypadkach wątpliwych doskórne szczepienie na odwołioną skórę królika wyjaśnia sprawę, gdyż tylko wirus *vaccinia* wytwarza typowe krosty. Nie można odróżnić ogniska *alastrim* od ogniska ospy na CAM. Rozpoznanie różnicowe pomiędzy tymi dwoma wirusami jest możliwe drogą hodowli w różnych temperaturach. Na CAM wirus *alastrim* zaledwie rozwija się w temperaturach powyżej 38, 25°C; przy zaszczepieniu dawką niższą od 200 dawek zakaźnych w tej temperaturze nie tworzy on ognisk widocznych gołym okiem.

Wszystkie inne metody hodowlane pozostają w tyle w stosunku do hodowli w jaju i uważa się obecnie, że dla sprawy szybkiego rozpoznania mają wartość stosunkowo małą. Stosowana dawniej próba Paula, polegająca na przeszczepieniu materiału na skaryfikowaną rógówkę królika, trwa zwykle o 1 dzień dłużej (3—4 dni) i nie pozwala na zróżnicowanie pomiędzy ospą i wirusem *vaccinia*. To samo odnosi się do hodowli wirusa ospy w nowo narodzonych myszach oraz w niektórych hodowlach tkankowych. Diagnozowanie na zarodkach kurzych może być ewentualnie uzupełnione metodą techniki plaque, która wykazuje różnice w morfologii plaque w zależności od badanego wirusa.

W ostatnich czasach wykazanie czynnika chorobotwórczego za pomocą mikroskopu elektronowego nabiera coraz większego znaczenia i jest uważane w chwili obecnej za najszybszą metodę rozpoznawania. Ujemną stroną tej metody jest niemożność różnicowania pomiędzy wirusem ospy i *vaccinia*. Jeżeli laboratorium zostanie dostatecznie wcześniej zawiadomione o konieczności podjęcia badań i w związku z tym, zostaną od razu wykonane prace wstępne to pozytywne rezultaty można uzyskać już w ciągu jednej godziny. Typowa cegiełkowata postać wirusa podgrupy *variola vaccinia* może być przy odpowiedniej technice preparacyjnej w mikroskopie elektronowym uchwycona stosunkowo łatwo.

Cząsteczki wirusa *varicella* są przy średnicy 180 mmikr. znacznie krótsze niż wirus ospy, a ponadto różnią się one od nich kształtem wyraźnie kulistym.

Wykazanie obecności czynnika zakaźnego za pomocą mikroskopu elektronowego udaje się najlepiej w okresie stadium plamistości i grudkowatości oraz w okresie tworzenia się pęcherzyków. Stadium krostowe nie jest tak korzystne, gdyż mętna, ciągliwa, a często ropna zawartość krosty występująca obok kruszywa komórkowego (*detritus*) utrudnia rozpoznanie.

Jest jednak ważne, że badanie za pomocą mikroskopu elektronowego daje pozytywne wyniki częstokroć nawet w początkowej fazie choroby w stadium poprzedzającym wykwity (1 dzień po tzw. *rashu*), a zatem pierwszego dnia występowania osutki względnie w 4 dniu choroby. Jako materiału do badań używa się najlepiej w stadium *rash* oraz w stadium plamisto-grudkowym surowicy uzyskanej bezkrwawo ze zmienionych części skóry oraz materiału pobranego z pęcherzyków i krost. Materiały nanosi się bez specjalnego rozcierania na odłuszczone szkiełka podstawowe i pozwala im się przyschnąć na powietrzu. Przygotowanie preparatów do badania pod mikroskopem elektronowym przeprowadza się wg Petersa i Nasemana, tj. metodą odbitek pośrednich (indirektes Tupferfahren).

Stosowane dawniej często metody optycznego wykazania zabarwionych cząsteczek wirusa (barwienie wg Herzberga, srebrzenie wg Moro-

z o w a), które w korzystnych przypadkach mogą być przeprowadzane w ciągu 30—60 min. — są mniej pewne. Przy rozpoznawaniu typowych ciałek elementarnych ospowych badanie pod mikroskopem elektronowym góruje bezwzględnie nad badaniem za pomocą mikroskopu optycznego.

Podnosząc sprawę morfologicznego rozpoznawania zarazka, nie można pominąć metody histologicznej wykazywania ciałek wtrętowych. Metoda ta jest konieczna dla potwierdzenia próby P a u l a, nie posługuje się nią jednak w praktyce diagnostyki ospy.

Można by jeszcze dyskutować na temat prób serologicznych, których celem jest wykazanie antygeny swoistego przez użycie swoistych surowic odpornościowych. Do tego celu nadają się najlepiej próba wiązania dopełniacza albo też test precypitacji w żelu agarowym, a wreszcie rozpoznawanie za pomocą metody fluoroscencyjnej. Do wszystkich prób dla wykazania antygeny potrzebna jest zawartość w materiale dużej ilości wirusa lub antygeny, co niestety nie zawsze ma miejsce. Do prób ostatnio wspomnianych potrzeba stosunkowo dużo materiału, toteż w praktyce rutynowej ten sposób postępowania, który z reguły wymaga 4—6 godzin pracy, nie został jak dotąd szerzej wprowadzony. Różnicowanie pomiędzy *variola* a *vaccinia* jest na tej drodze także niemożliwe.

Na zakończenie autor pragnąłby omówić pokrótce rozpoznawanie serologiczne ospy drogą wykazania swoistych przeciwciał w surowicy pacjenta.

W przebiegu ospy występują we krwi chorego swoiste przeciwciała. Są to przeciwciała zobojętniające, hamujące hemaglutynację (HA), wiążące dopełniacz i dające odczyny precypitacyjne. Jak wynika z badań autora przeprowadzonych na licznych chorych na ospę, pacjenci z *variola discreta*, *variola confluens* i *semiconfluens* oraz z *variola haemorrhagica secundaria* wykazują jednakowe zachowanie. Po 10 dniu choroby 96—100% próbek surowicy dawało dodatni odczyn w teście neutralizacji, a w teście precypitacji i wiązania dopełniacza 65—80%. Najpierw pojawiają się przeciwciała zobojętniające i hamujące odczyn HA. Najczęściej można wykazać te ciała w 5 dniu choroby. Przeciwciała wiążące dopełniacz i precypitujące można po raz pierwszy wykazać w 7 dniu choroby.

Odchylenia w odczynach serologicznych stwierdzono przy *alastrim*, przy *variolois* oraz u chorych z pierwotną ospą krwiotoczną. W przypadku *variolois* przeciwciała we krwi występują wcześniej. W 10 dniu choroby wszyscy pacjenci wykazywali wysoki poziom przeciwciał. Przeciwciała hamujące HA można było w sporadycznych przypadkach wykazać już w 4 dniu choroby.

Obraz przeciwciał ospy pierwotnie krwiotocznej najbardziej różnił się od innych postaci ospy. U 8 z 10 pacjentów autor mógł już w pierwszych dniach choroby (3—7 dnia) wykazać w surowicy przeciwciała o mianach

znamiennych. Zwracało uwagę to, że w pierwszym rzędzie dochodziło tutaj do tworzenia się przeciwciał precypitujących i wiążących dopełniacz.

Tworzenie się przeciwciał w *alastrim* jest wyjątkowo słabe. Nie można sobie inaczej wytłumaczyć wielu ujemnych wyników u badanych przez autora pacjentów.

Jest interesujące, że przeciwciała zobojętniające i hamujące HA osiągnęły wyższy poziom aniżeli inne rodzaje przeciwciał.

Najprostszą i najszybszą a zazwyczaj najpewniejszą metodą serologiczną jest odczyn hamowania aglutynacji HA (HAH). Na drodze serologicznej nie można rozróżnić przeciwciał swoistych ospy i *vaccinia*. Tym samym przeciwciała mogą być wyrazem poprzednich szczepień ochronnych przeciw ospie albo też mogły powstać pod wpływem nowego zakażenia przez *vaccinia*. Dla rozpoznania jest ważne, że przeciwciała swoiste dla *vaccinia* wykazują miano niższe aniżeli dla ospy. W próbie HAH przy zakażeniu przez *vaccinia* autor nie stwierdzał nigdy wyższego miana niż 1 : 128, gdy tymczasem przy zachorowaniach na ospę miano HAH na szczycie choroby, tj. w 9—10 dniu, wynosi 1 : 512—1 : 1024, a często i więcej. Tak wysokie miano pozwalają z całą pewnością wnioskować o genezie choroby zależnej od wirusa ospy.

Tabela 4

Próby pobierane dla rozpoznawania ospy w poszczególnych okresach choroby

Okres choroby	Do hodowli wirusa (E)	Do badania mikroskopowego (O)	Do badania serologicznego
wstępny	pełna krew (E)	wysięk surowicy po podrażnieniu miejscowym w okresie rash	surowica
plamisto-grudkowy	pełna krew (E) wysięk z tkanek (E)+(O)	popłuczyny z gardła	surowica
pęcherzykowy	treść pęcherzyka (E+O)		surowica
krostowy	treść krosty (E)+(O) ?		surowica
zestrupienia	strupy (E)		surowica
później	— — —		surowica

Bardzo poważne znaczenie dla retrospektywnego rozpoznania u pacjentów z *variolois*, u których z powodu poronnego klinicznego przebiegu choroba początkowo nie została właściwie rozpoznana — posiada wykazanie przeciwciał. Często rozpoznawanie w tego rodzaju przypadkach następuje bardzo późno, dopiero w okresie dochodzeń epidemiologicznych. Wykazanie czynnika chorobotwórczego bywa w tym czasie niemożliwe, a rozpo-

Tabela 5

Rozpoznawanie laboratoryjne ospy

Okresy choroby	Rodzaj próby	Metoda	Czas potrzebny na wykonanie	Spodziewane wyniki	Potwierdzenie wyniku w przypadku	
					dodatnim	ujemnym
Krosto- wy	surowica	S:ZHA	3 godz.	T do 4000	+++ (od 256)	+
	treść krosty	E:zakażenie na CAM	2—3 dni	V do 7,0	+++	+++
		KC	3—4 dni	+	0—++	O
		OWD	3 godz.	+	+++	O
Strupów	surowica	S:ZHA	3 godz.	T do 2000	+++ (od 256)	+—++
	strupy	E:zakażenie na CAM	2—3 dni	V do 4,0	+++	+

Legenda:

- E — hodowla zarazka
- S — wykrywanie przeciwciał
- V — zawartość wirusa w EJD₅₀ 0,1 ml (1 og 10)
- T — miano w odczynie zahamowania hemaglutynacji 1:
- OWD — wykrywanie antygeny w odczynie wiązania dopełniacza z użyciem surowic testowych
- ME — wykrywanie zarazka w mikroskopie elektronowym
- MŚ — wykrywanie zarazka w mikroskopie optycznym
- KC — hodowla zarazka na rogówce królika (próba Paula)

znanie serologiczne może wówczas dostarczyć ważnych materiałów dowodowych.

Autor starał się przedstawić najważniejsze zapatrywania na kliniczne i laboratoryjne rozpoznawanie ospy i jest zdania, że dzisiaj rozporządzamy dostateczną ilością metod zapewniających szybkie i pewne rozpoznanie ospy. Nie zapominajmy jednak nigdy, że w szczepieniach ochronnych spoczywa najpewniejsza metoda zabezpieczenia narodu przed groźnymi następstwami epidemii ospy.

А. Ма и р

ДИАГНОСТИКА ОСПЫ

Резюме

Спорадические случаи вспышки оспы в Европе требуют постоянной бдительности. Самой лучшей защитой от оспы является всеобщая

вакцинация, а основным условием кампании по борьбе с оспой — быстрый и надежный диагноз.

В докладе представлены собственные опыты по клинической и лабораторной диагностике оспы. *Variola, alastrim* и *variolois* протекают в различных формах, их клиническая диагностика очень затруднительна и часто невозможна. Вкратце приведена ценность отдельных симптомов для клинической диагностики оспы. Лабораторная диагностика оспы сводится к выявлению фактора инфекции и его характеристики. В докладе обсуждаются принципы лабораторной диагностики оспы, основанной на: 1) культуре микроба, 2) микроскопических исследованиях в световом и электронном микроскопе, 3) обнаружении антигена, характеризующего вирус.

К докладу приложены таблицы, которые представляют: 1) возможность лабораторной диагностики при подозрении *varioli*, 2) вид проб, которые могут быть взяты для диагностики оспы в отдельных периодах болезни, 3) принципы дифференциации вирусов: *variola* — *alastrim* — *vaccinia*.

A. M a y r

DIAGNOSIS OF SMALLPOX

S u m m a r y

Sporadic outbreaks of smallpox in Europe require a permanent attention. The best protection against smallpox is achieved by a mass vaccination, and a quick and reliable diagnosis is essential for the control of this disease.

The author's own experience of clinical and laboratory diagnosis of smallpox has been presented in the report.

Variola, alastrim, and *variolois* run different courses, clinical diagnosis of these diseases is difficult and often impossible. The value of individual symptoms for the clinical diagnosis of smallpox is discussed briefly.

Laboratory diagnosis of smallpox consists in the demonstration of infectious agent and its characteristic features. The principles of laboratory diagnosis of smallpox are discussed in the report along 3 lines: (1) cultivation of infectious agent. (2) examination in optical and electron microscope, (3) detection of antigen characteristic of virus.

Tables are attached to the report, and these present: (1) possibilities of laboratory diagnosis when *variola* is suspected, (2) kind of samples which may be taken for the diagnosis of smallpox at different stages of the disease, and (3) methods for differentiation of *variola, alastrim*, and *vaccinia* viruses.