



EVALUATION DES METHODES DE LABORATOIRE APPLICABLES  
AU DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE  
DE LA VARIOLE

par

James H. Nakano, Ph.D.  
Center for Disease Control  
Health Services and Mental Health Administration  
United States Department of Health, Education, and Welfare  
Atlanta, Géorgie 30333



RESUME

(Communication présentée à la Conférence sur les méthodes nouvelles applicables à l'étude et au diagnostic des maladies virales, Sapporo, Japon, 18, 19, 20 septembre 1972)

De juillet 1966 à mai 1972, le Vesicular Disease Laboratory du Center for Disease Control a examiné des prélèvements provenant de 849 cas présumés de variole par au moins deux méthodes, la microscopie électronique (ME) et la culture sur membrane chorioallantoïde d'embryon de poulet (MCA). Certains échantillons ont été soumis à l'ensemble des quatre méthodes couramment utilisées au laboratoire : ME, MCA, précipitation en milieu gélifié et culture tissulaire.

Pour les échantillons conditionnés sur place, la méthode de culture MCA à laquelle, traditionnellement, on s'adresse de préférence pour le diagnostic de la variole s'est révélée moins sensible que la ME, le virus étant fréquemment inactivé en raison des conditions défavorables qu'il rencontre sur le terrain. Les cultures sur MCA sont utiles pour identifier les sous-groupes de poxvirus mais surtout en association avec les cultures tissulaires. Isolée, l'épreuve de précipitation en milieu gélifié est la méthode la moins sensible mais garde un certain intérêt pour confirmer les résultats de la ME.

La ME s'est montrée extrêmement efficace pour diagnostiquer la varicelle mais n'a permis l'identification certaine des infections par la vaccine que dans la moitié des cas environ; pour la vaccine, la culture sur MCA est donc la méthode fondamentale.

La découverte de cas humains de monkeypox en Afrique occidentale a mis en évidence l'insuffisance des méthodes usuelles de diagnostic de la variole. Le diagnostic de ces cas n'a été possible qu'avec l'utilisation de méthodes plus fines, par exemple l'intradermo-réaction sur lapin.

INTRODUCTION

Le diagnostic de la variole utilise un certain nombre de méthodes de laboratoire qui ont été passées en revue par Dumbell<sup>1</sup> et Downie & Kempe.<sup>2</sup> La plupart d'entre elles sont appliquées depuis 1966 au Vesicular Disease Laboratory of the Center for Disease Control (CDC),

The issue of this document does not constitute formal publication. It should not be reviewed, abstracted or quoted without the agreement of the World Health Organization. Authors alone are responsible for views expressed in signed articles.

Ce document ne constitue pas une publication. Il ne doit faire l'objet d'aucun compte rendu ou résumé ni d'aucune citation sans l'autorisation de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les opinions exprimées dans les articles signés n'engagent que leurs auteurs.

Atlanta, Géorgie, dans ses attributions de laboratoire de référence pour le programme d'éradication de la variole du CDC appliqué dans 20 pays d'Afrique occidentale et de laboratoire régional OMS de référence pour la variole. Les méthodes de diagnostic qu'utilise actuellement ce laboratoire résultent d'un choix fait au cours des années d'après les critères de fidélité et de rapidité d'exécution.

Les résultats exposés dans le présent rapport mettent en évidence la sensibilité des méthodes qui ont été retenues. Ils montrent aussi que ces méthodes ne sont pas toujours adaptées à des conditions exceptionnelles et qu'il est nécessaire de disposer de techniques encore plus précises et plus efficaces.

## MATERIEL ET METHODES

### Echantillons de diagnostic

De juillet 1966 à mai 1972, le laboratoire a reçu des prélèvements de croûtes et de liquide vésiculaire provenant de 849 sujets suspects vivant aux Etats-Unis d'Amérique, en Afrique, dans le Sud-Est asiatique et dans le Proche-Orient. Dans ce nombre ne figurent pas les prélèvements provenant des 165 cas brésiliens d'alastrim examinés également au laboratoire, qui ont déjà fait l'objet d'un rapport par Noble et ses collaborateurs.<sup>3</sup>

### Méthodes de diagnostic

Le tableau 1 donne, d'après Downie & Kempe,<sup>2</sup> les sept méthodes applicables au diagnostic virologique de la variole. Le laboratoire CDC utilise couramment les quatre premières : ME, épreuve de précipitation en gélose, culture MCA et culture tissulaire. La technique employée en ME est celle décrite par Long et al.,<sup>4</sup> et les méthodes de culture sur MCA et de précipitation en gélose sont celles de Downie & Dumbell<sup>5</sup> et de Dumbell & Nizamuddin<sup>6</sup> respectivement, déjà employées par Nobel et al.<sup>3</sup> Quant aux cultures tissulaires, il s'agit de cultures en première transplantation de tissu rénal de singe Rhésus et de fibroblastes d'embryons humains entretenus en tubes à essai; enfin, la caractérisation des souches de poxvirus est faite sur cellules rénales de singe cercopithèque VERO. L'inoculum consiste en 0,2 ml de prélèvement broyé ou homogénéisé en tampon McIlvaine 0,004M, additionné de pénicilline et de streptomycine. Les trois dernières méthodes indiquées au tableau 1, à savoir frottis colorés, fixation du complément et immunofluorescence, qui n'ajoutent rien aux précédentes, ont été laissées de côté.

Les souches de poxvirus ont été déterminées par les méthodes de Lourie et al.<sup>7</sup> basées sur :

1. La morphologie des pustules sur MCA
2. La morphologie des plages en culture tissulaire (cellules rénales de singe cercopithèque VERO)
3. L'intradermo-réaction chez le lapin
4. La température plafond pour la culture des poxvirus sur MCA<sup>8</sup>
5. La létalité pour l'embryon de poulet<sup>8,9</sup>
6. La virulence, en inoculation intracérébrale ou au niveau du coussinet plantaire,<sup>10</sup> à l'égard du souriceau à la mamelle.

## RESULTATS

Le tableau 2 présente les résultats obtenus avec trois combinaisons différentes d'épreuves pratiquées sur les prélèvements provenant de cas suspects. Au début, seules la ME et la culture sur MCA ont été utilisées; puis, la plupart des prélèvements ont en outre été soumis à l'épreuve de précipitation en gélose. Enfin, à partir de juillet 1971, tous les prélèvements ont été examinés par les quatre méthodes : ME, MCA, précipitation en gélose et culture tissulaire. Le tableau indique le nombre de cas examinés, le nombre et le pourcentage de cas où aucune méthode n'a révélé la présence de virus, le nombre et le pourcentage de cas chez lesquels la présence de virus d'un type ou d'un autre a été décelée par une ou par plus d'une méthode, le nombre et le pourcentage de cas de variole diagnostiqués et enfin le nombre et le pourcentage d'infections du groupe de l'herpès-varicelle qui ont été détectées.

Le tableau 3 indique l'efficacité relative de chaque méthode. D'après les résultats correspondant aux 801 cas étudiés durant la période d'utilisation des trois méthodes ME, MCA et précipitation en gélose, le pourcentage de réactions positives (30,0 %) à l'épreuve de précipitation en gélose était (statistiquement) significativement inférieur à celui observé avec les méthodes ME ou MCA. Aucune des autres différences relevées n'était statistiquement significative bien que la proportion observée de cas positifs d'après la ME ait été régulièrement supérieure à celle indiquée par les deux autres méthodes.

Le tableau 3 montre en outre (dernier groupe d'épreuves) l'intérêt qu'il y a à ajouter la "culture tissulaire" aux trois méthodes couramment pratiquées. Sur les 48 cas positifs de variole, 41 seulement étaient positifs à l'examen MCA, mais 45 l'étaient en culture tissulaire. Cette éventualité peut se produire lorsque, pour une raison quelconque, la sensibilité de l'épreuve MCA diminue. Nous avons effectivement remarqué qu'au cours du déroulement des épreuves, le titre en unités de formation de plages (UFP) du "vaccin antivariolique étalon de la maison" était d'environ 0,5-1,0  $\log_{10}$  inférieur à la normale. Lorsqu'une perte de sensibilité de l'épreuve MCA est soupçonnée, il est certainement indiqué de soumettre tous les échantillons négatifs à la MCA à une contre-épreuve sur culture tissulaire. Dans cette série d'épreuves, 30 prélèvements se sont révélés positifs à la ME mais négatifs à l'épreuve MCA pour les poxvirus et 17 négatifs à la ME mais positifs à l'épreuve MCA (résultats non indiqués dans le tableau 3).

On voit dans le tableau 4 que le diagnostic positif de varicelle-herpès repose sur la ME. La ME a donc un rôle essentiel dans le diagnostic différentiel de la varicelle et de la variole. On voit également qu'en ce qui concerne la varicelle le nombre des isollements est très faible. Les prélèvements correspondants consistaient généralement en croûtes sèches de pustules et/ou en liquide vésiculaire expédié sans réfrigération, c'est-à-dire dans des conditions tout à fait contraires à la conservation des virus varicelleux.

Le tableau 5 indique l'efficacité des diverses méthodes d'épreuve en ce qui concerne le diagnostic des cas de complication vaccinale. Sur les 25 cas positifs de virus vaccinaux, 100 % ont été détectés par l'épreuve MCA et 52 % seulement par la ME. L'épreuve de précipitation en gélose n'en a détecté que 12 %, dont aucun qui n'ait été également détecté par les deux autres méthodes.

### Fiabilité des résultats "négatifs"

La colonne 3 du tableau 2 indique le nombre et le pourcentage de cas dans lesquels aucune des trois combinaisons de méthodes n'a révélé la présence du virus. Ces pourcentages sont assez importants (37,8, 38,3 et 47,1 respectivement) et méritent mieux qu'une simple mention, car pour ces cas le diagnostic final du laboratoire a été celui d'absence de variole. Mais ne serait-il pas possible qu'il y ait eu parmi eux des cas de variole ?

Le tableau 6 répond en partie à cette question. Sur les 83 cas suspects examinés aux Etats-Unis d'Amérique de juillet 1966 à mai 1972, 44 étaient négatifs pour la présence de virus, aucun n'était positif pour la variole et 39 étaient positifs pour le groupe varicelle-herpès. Dans les pays d'Afrique occidentale, il y a eu au cours des derniers mois de 1970 une époque "crépusculaire" pendant laquelle aucun cas authentique de variole n'a été rencontré. Entre janvier 1971 et mai 1972, 93 cas suspects ont été examinés; 54 étaient négatifs pour la présence de virus, aucun n'était positif pour la variole et 39 étaient positifs pour le groupe varicelle-herpès. Aucun cas secondaire de variole ne s'étant produit chez les contacts non protégés des 98 cas "négatifs", qui étaient placés sous surveillance stricte, nous pouvons conclure à l'exactitude du diagnostic négatif de variole.

Lorsque les prélèvements faits sur un cas authentique de variole sont en quantité suffisante, il y a de très fortes chances (45/45 soit 100 %) pour que l'infection soit décelable par deux au moins des quatre méthodes. Trois des 48 cas du tableau 3 pour lesquels le diagnostic de variole basé sur le système des quatre méthodes d'épreuve était positif ne répondent pas à cette attente. Dans ces trois cas, la présence de virus n'a été décelée que par une seule des quatre méthodes.

L'insuffisance du volume des prélèvements est partiellement responsable de cette anomalie. Pour deux de ces cas, on ne disposait que d'un seul petit frottis de liquide vésiculaire et pour le troisième d'un seul écouvillon de contenu vésiculaire. Les suspensions faites à partir des prélèvements sont alors diluées à l'excès pour obtenir le volume nécessaire à l'application des diverses épreuves. Les seuls résultats positifs sont ceux de la ME, ce qui s'explique probablement par la nécessité absolue de réserver pour cet examen la fraction la moins diluée.

Mais la condition pour qu'un échantillon soit reconnu négatif étant que les quatre épreuves donnent toutes des résultats négatifs, nous estimons que lorsque les prélèvements sont en quantité suffisante, un cas pour lequel le diagnostic est "négatif" a toutes les chances de n'être pas un cas de variole.

#### Diagnostic de laboratoire du monkeypox humain

A la suite du programme de vaccination antivariolique de masse appliqué par le CDC dans 20 pays d'Afrique occidentale au cours des cinq dernières années, aucun cas de variole authentique n'a été rencontré dans ces pays depuis mai 1970.<sup>11</sup> Mais, entre septembre 1970 et octobre 1971, 7 cas de maladie pustuleuse, cliniquement indifférenciable de la variole, ont été observés en Afrique occidentale (tableau 7). En outre, un cas semblable qui s'est produit le 20 août 1970 a été signalé au Zaïre par le Dr S. S. Marennikova de Moscou, URSS. La différence entre ces cas et les cas ordinaires de variole résidait dans l'absence d'infection secondaire après contact entre sujets atteints et individus non protégés.

Les résultats présentés dans le tableau 8 indiquent que les quatre isollements africains, V70-I-187, V70-I-199, V70-I-266 et V71-I-82 correspondent au monkeypox. Le détail de leurs caractéristiques par rapport aux divers critères d'identification est indiqué ci-après.

#### Morphologie des vésicules sur MCA

Les deux isollements libériens (V70-I-199) et celui de Sierra Leone (V70-I-266) produisent sur MCA de petites pustules blanches avec nécrose centrale et hémorragie. La nécrose centrale a l'aspect d'une perforation de la taille d'une pointe d'épingle. Ces pustules rappellent celles du monkeypox (Utrecht) mais diffèrent de celles de la variole (Harvey) où l'on n'observe ni nécrose centrale, ni hémorragie. Quant aux pustules données par l'isolement nigérien (V71-I-82) elles ne se différencient pas nettement de celles de la variole. Par contre, les pustules produites par les quatre isollements étaient beaucoup plus petites que celles données par la vaccine et par suite aisément différenciables de ces dernières.

### Morphologie des plages en lignée cellulaire VERO

En cultures sur tapis monocellulaires VERO, les quatre isolements (souche nigérienne comprise) et le monkeypox (Utrecht) donnent de larges plages à centre relativement clair, cernées d'un bourrelet cellulaire, tandis que le virus variolique (Harvey) produit des amas cellulaires hyperplasiques suivis de la formation de petites plages. Sur MCA, les pustules de l'isolement nigérien ne différaient pas sensiblement de celles du virus variolique, mais sur cellules VERO les plages formées par les deux germes étaient dissemblables. Par contre, les plages formées par les quatre isolements et par le monkeypox n'étaient pas morphologiquement très différentes de celles formées par la vaccine.

### Intradermo-réaction chez le lapin

Les quatre isolements déterminent chacun l'apparition de lésions locales nécrotiques et hémorragiques au point d'inoculation intradermique. Les lapins inoculés présentent une atteinte généralisée avec exanthèmes secondaires "satellites". Un volume de 0,1 ml d'inoculum viral de chaque isolement au titre de  $10^{1,5}$  unités de formation des pustules (UFP/0,1 ml) détermine une lésion hémorragique locale d'environ 15 mm de diamètre; par contre, avec un inoculum de variole (Harvey) d'un titre égal à  $10^{5,5}$  UFP/0,1 ml, la réaction est pratiquement invisible et avec un inoculum de vaccine, elle est à peine visible. Le monkeypox (Utrecht) inoculé par voie intradermique détermine des réactions analogues à celles observées avec les quatre isolements. L'épreuve d'intradermo-réaction sur lapin est probablement la méthode de dépistage qui, employée isolément, est la plus appropriée pour différencier le monkeypox humain de la variole.

### Température plafond pour la croissance des poxvirus sur MCA

Les quatre isolements et le monkeypox (Utrecht) se différencient aisément de la variole (Harvey) et de la vaccine (Wyeth) par leur aptitude à pousser à 39,0°C et à ne plus pousser à 39,5°C. Il s'ensuit qu'en ce qui concerne l'épreuve de température plafond les quatre isolements et le monkeypox (Utrecht) présentent les mêmes caractéristiques.

### Létalité sur embryon de poulet

Le  $\log_{10}$  du nombre moyen d'UFP/0,1 ml permettant une survie des embryons de poulets de quatre jours en moyenne (valeur  $D_4$ ) était de 2,1 pour les quatre isolements; de 2,2 pour le monkeypox (Utrecht); et de 2,2 pour la vaccine, mais de 5,0 pour la variole. Les quatre isolements, le monkeypox (Utrecht) et la vaccine (Wyeth) étaient environ 1000 fois plus létaux pour l'embryon de poulet que la variole (Harvey).

### Epreuve de virulence sur souriceau à la mamelle par inoculation intracérébrale et au niveau des coussinets plantaires

Le  $\log_{10}$  UFP/0,1 ml moyen de virus pour lequel le temps moyen de survie est de quatre jours (valeur  $D_4$ ) en inoculation intracérébrale chez des souriceaux à la mamelle âgés d'un jour était de 3,0 pour les quatre isolements et de 3,1 pour le monkeypox (Utrecht). Pour la variole la valeur  $D_4$  était de 6,2; la létalité des quatre isolements et du monkeypox (Utrecht) est donc beaucoup plus grande que celle de la variole.

L'inoculation à des souriceaux à la mamelle âgés d'un jour de 0,02 ml de l'un quelconque des quatre isolements ou du virus du monkeypox (Utrecht) d'un titre de  $10^{2,0}$  UFP/0,1 ml au niveau des coussinets plantaires détermine une infection généralisée avec mortalité de 100 % au septième jour; un même volume d'inoculum de variole ou de vaccine d'un titre de  $10^{5,0}$  UFP/0,1 ml ne détermine qu'une infection locale du membre et occasionnellement une atrophie.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Pour le diagnostic de laboratoire de la variole, il importe de disposer d'une quantité suffisante d'échantillons. Ceux-ci doivent consister au minimum en trois grandes croûtes de 2 à 3 mm de diamètre ou en deux tubes capillaires de liquide vésiculaire remplis sur 5 à 10 mm de hauteur. Nous estimons qu'en soumettant l'un ou l'autre type d'échantillons ou les deux aux quatre méthodes d'analyse (ME, précipitation en gélose, culture sur MCA et culture tissulaire) il y a fort peu de chances qu'un cas de variole échappe au diagnostic. La confiance accordée aux résultats est moindre lorsque la quantité d'échantillons collectés est insuffisante.

Le fait de disposer d'échantillons de taille suffisante renforce non seulement la probabilité d'obtenir des diagnostics positifs exacts mais aussi - ce qui est peut-être encore plus important - la confiance que l'on peut placer dans les résultats négatifs.

Traditionnellement, la culture sur la MCA était considérée comme l'épreuve la plus sensible et la plus précise pour confirmer au laboratoire la présence de variole. Cependant, nous avons eu l'occasion de constater dans notre laboratoire que c'est à l'examen ME que le pourcentage d'identifications positives des poxvirus est le plus élevé. La plupart des échantillons que nous avons reçus venaient d'Afrique ou d'autres régions lointaines et ont pu en cours de route rencontrer à diverses reprises des conditions défavorables. Le virus a pu s'en trouver inactivé ce qui expliquerait les nombreux échecs des essais d'isolement.

La méthode de précipitation en gel de gélose, quoique moins sensible que les autres, a l'avantage d'être simple à appliquer et de pouvoir utilement servir à confirmer les résultats de la ME. Il est toujours satisfaisant de voir un examen ME négatif corroboré par une épreuve de précipitation en gélose également négative.

La ME est essentielle au diagnostic positif de la varicelle, mais n'est pas toujours sûre quand il s'agit de détecter une infection vaccinale. Dans ce cas les prélèvements sont apparemment beaucoup moins riches en virus que dans le cas de la variole ou de la varicelle et les chances d'apercevoir le germe au microscope électronique sont notablement réduites.

Les considérations précédentes ne concernent que les échantillons et les conditions du diagnostic de laboratoire mais qu'en est-il de l'expérience et des réactions de l'opérateur ?

L'expérimentateur éprouvé doit, à la réception d'un échantillon, reconnaître d'emblée si sa taille est suffisante pour permettre de détecter la variole. Ce jugement prend toute son importance lorsque les épreuves donnent chacune un résultat négatif, car il importe alors de savoir si cette concordance tient à l'insuffisance des prélèvements ou si elle traduit réellement l'absence de variole.

Au microscope électronique, l'expérimentateur doit examiner un échantillon de liquide vésiculaire ou de croûte homogénéisée après dilution suffisante pour éviter aussi bien de surcharger les grilles, ce qui gênerait la vision nette des particules virales, que de les charger insuffisamment et de donner lieu à une observation faussement négative. Le microscopiste électronique expérimenté ne se fierait pas aveuglément à un résultat négatif obtenu lorsque la quantité de matériel utilisé pour préparer les grilles est trop faible.

Lorsqu'il effectue l'épreuve de précipitation en gel de gélose, l'expérimentateur doit bien évidemment opérer avec le plus grand soin afin de bien verser les réactifs dans les godets qui conviennent et en quantité suffisante pour éviter les résultats faussement négatifs. Il doit être également capable de reconnaître une ligne de précipitation qui n'est pas spécifique et inversement de ne pas laisser passer une ligne spécifique à peine marquée.

En ce qui concerne la culture sur MCA, l'opérateur doit être non seulement expérimenté mais aussi minutieux et toujours en éveil, constamment à l'affût d'événements insolites. Il doit reconnaître les pustules non spécifiques, savoir distinguer les pustules de la variole de celles

de l'Herpes simplex. Il lui faut aussi observer avec la plus grande attention les pustules qui, telles celles du monkeypox humain, ne diffèrent que très peu des pustules de la variole.

Pour ce qui est de la culture cellulaire, l'opérateur ne doit pas seulement posséder des connaissances générales sur les cultures tissulaires normalement utilisées mais aussi être suffisamment expérimenté et attentif pour reconnaître des effets cytopathogènes qui diffèrent légèrement de ceux dus aux souches ordinaires de virus.

Considérant que, dans de nombreuses régions du globe, l'objectif d'éradication totale de la variole n'est plus très éloigné, je voudrais insister sur l'importance croissante qu'il y a à soumettre chaque cas suspect de variole à des examens de laboratoire complets et minutieux. Depuis la découverte des cas humains de monkeypox, nous nous sommes rendu compte que nos méthodes courantes de diagnostic sont sûres pour la variole mais sont insuffisantes pour identifier entièrement ces cas inhabituels. Il est indispensable d'avoir alors recours à des épreuves plus fines donnant des résultats plus spécifiques.

Il est certain que d'autres épidémies d'infections pseudo-varioliques dues à des virus autres que celui de la variole se sont produites et continueront à se produire. C'est seulement par des examens de laboratoire très poussés que pourra être déterminée la véritable étiologie de ces épidémies.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dumbell, Keith R. (1968) Laboratory aids to the control of smallpox in countries where the disease is not endemic, Progr. med. Virol., 10, 388-397
2. Downie, Allan W. & Kempe, C. Henry (1969) Poxviruses. In: Lennette, E. H. & Schmidt, Nathalie J., ed., Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections, American Public Health Assoc., Inc., 4th ed., pp. 281-320
3. Noble, John, jr et al. (1970) A clinical and laboratory study of smallpox in Brazil, Amer. J. trop. Med. Hyg., 19, 1020-1028
4. Long, Gary W. et al. (1970) Experience with electron microscopy in differential diagnosis of smallpox, Appl. Microbiol., 20, 497-504
5. Downie, A. W. & Dumbell, K. R. (1947) The isolation and cultivation of variola virus on the chorio-allantois of chick embryos, J. Path. Bact., 59, 189-198
6. Dumbell, K. R. & Nizamuddin, M. D. (1959) An agar gel precipitation test for the laboratory diagnosis of smallpox, Lancet, I, 916-917
7. Lourie, Bernard et al., Infection humaine par le virus du monkeypox : étude au laboratoire de six cas d'Afrique occidentale, Bull. Org. mond. Santé (sous presse)
8. Bedson, H. S. & Dumbell, K. R. (1961) Effect of temperature on the growth of poxviruses in chick embryo, J. Hyg. (Lond.), 59, 457-469
9. Bauer, D. J. (1960) Some applications of a single-dilution method of titrating neurotropic viruses in zero mortality (Do) units, Brit. J. exp. Path., 41, 130-139
10. Schell, K. (1960) Studies on the innate resistance of mice to infection with mousepox. II. Route of inoculation and resistance; and some observations on the inheritance of resistance, Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 38, 289-300
11. Foster, S. O. et al., monkeypox humain, Bull. Org. mond. Santé (sous presse)

TABLEAU 1. METHODES DE LABORATOIRE APPLICABLES  
AU DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE DE LA VARIOLE

Méthodes	Application
Microscopie électronique	Poxvirus
Epreuve de précipitation en gélose	Poxvirus
Culture sur MCA de poulet	Variole
Cultures tissulaires (Cellules rénales de singe ou fibroblastes embryonnaires humains de première explantation)	Isolement et identification partielle du virus variolique
Frottis colorés	Poxvirus
Fixation du complément	Poxvirus
Immunofluorescence	Poxvirus

TABLEAU 2. RECHERCHE DU VIRUS VARIOLIQUE DANS DES ECHANTILLONS SUSPECTS PAR TROIS COMBINAISONS DE METHODES

Méthodes	Nombre de cas présûmés de variole	Nombre de cas où aucun virus n'a été détecté	Nombre de cas où des virus ont été détectés	Nombre de cas de variole identifiés	Nombre de cas d'herpès-varicelle identifiés
ME <sup>a</sup> + MCA <sup>b</sup>	849	321 (37,8 %)	528 (62,2 %)	337 (39,7 %)	191 (22,5 %)
ME + MCA + Précipit. en gél. <sup>c</sup>	801	307 (38,3 %)	494 (61,7 %)	303 (37,8 %)	191 (23,8 %)
ME + MCA + Précipit. en gél. + C.T. <sup>d</sup>	153	72 (47,1 %)	81 (52,9 %)	48 (31,4 %)	33 (21,6 %)

<sup>a</sup> - ME = Microscopie électronique.  
<sup>b</sup> - MCA = Membrane chorioallantoïde d'embryon de poulet.  
<sup>c</sup> - Précipit. en gél. = Précipitation en gel de gélose.  
<sup>d</sup> - C.T. = Culture tissulaire.

TABEAU 3. METHODES DE DETECTION DES POXVIRUS

Méthodes	Nombre de cas présumés de varirole	Nombre de cas positifs d'après l'une au moins des méthodes	Nombre de cas positifs d'après la ME (poxvirus)	Nombre de cas positifs d'après la culture sur MCA (poxvirus)	Nombre de cas positifs d'après la précipitation en gélose (poxvirus)	Nombre de cas positifs d'après la C.T.
ME + MCA	849	337 (39,7 %)	320 (37,7 %) <sup>a</sup>	307 (36,2 %) <sup>a</sup>	N.D.	N.D.
ME + MCA + Précipit. en gél.	801	303 (37,8 %)	286 (35,7 %) <sup>b</sup>	279 (34,8 %) <sup>b</sup>	240 (30,0 %) <sup>b</sup>	N.D.
ME + MCA + Précipit. en gél. + C.T.	153	48 (31,4 %)	47 (30,7 %) <sup>c</sup>	41 (26,8 %) <sup>c</sup>	39 (25,5 %) <sup>c</sup>	45 (29,4 %) <sup>c</sup>

<sup>a</sup> - Pas de différence significative (d'après le test Chi-deux pour P = 0,50 et 1 degré de liberté).

<sup>b</sup> - Différences significatives entre les méthodes (test Chi-deux pour P = 0,03 et 2 degrés de liberté).

<sup>c</sup> - Différence non significative (test Chi-deux pour P = 0,73 et 3 degrés de liberté).

TABEAU 4. DEPISTAGE DES INFECTIONS DU GROUPE HERPES-VARICELLE PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE ET ISOLEMENT DU VIRUS

Méthodes	Total des cas positifs	ME	MCA	Précipit. en gél.	C.T.
ME + MCA	191	191 (100 %)	0	N.D.	N.D.
ME + MCA + Précipit. en gél.	191	191 (100 %)	0	0	N.D.
ME + MCA + Précipit. en gél. + C.T.	33	33 (100 %)	0	0	4 (12,1 %) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Trois cas d'Herpes simplex et un de varicelle.

TABEAU 5. DEPISTAGE DES INFECTIONS VACCINALES PAR DIVERSES METHODES D'EPREUVE

Méthodes	Total des cas positifs	Résultats positifs aux trois épreuves (ME, précipit. en gél., MCA)	ME seule	Précipit. en gél. seule	MCA seule
ME + MCA	25	3 (12 %)	13 (52 %)	3 (12 %)	25 (100 %)

TABEAU 6. DEPISTAGE DE L'INFECTION A POXVIRUS PAR DIVERSES METHODES D'EPREUVE

Localisation	Période	Total des cas suspects	Absence de virus	Variole	Herpès-varicelle
Etats-Unis d'Amérique	juillet 1966 à mai 1972	83	44	0	39
Pays d'Afrique occidentale	janvier 1971 à mai 1972	93	54	0	39

TABEAU 7. CAS HUMAINS DE MONKEYPOX JUSQU'A MAI 1972<sup>a</sup>

Numéro des cas	Pays	Age	Sexe	Vaccination	Date d'apparition	Base de diagnostic
1	Libéria	4	F	Non	13.9.70	Isolement de la souche V70-I-187
2	Libéria	4	M	Non	12.9.70	Données sérologiques et épidémiologiques
3	Libéria	6	F	Non	13.9.70	Données sérologiques et épidémiologiques
4	Libéria	9	M	Non	2.10.70	Isolement de la souche V70-I-199
5	Sierra-Leone	24	M	Non	1.12.70	Isolement de la souche V70-I-266
6	Nigéria	4	F	Non	9.4.71	Isolement de la souche V71-I-82
7 (possible)	Côte d'Ivoire	5	?	Non	8.10.71	Données sérologiques et épidémiologiques

<sup>a</sup> Un cas supplémentaire apparu au Zaïre le 24 août 1970 a été examiné par le Dr S. S. Marrenikova de l'Institut de Recherche sur les préparations virales.

TABLEAU 8. RESULTATS OBTENUS AU LABORATOIRE DANS DES EPREUVES EFFECTUEES SUR LES SOUCHES VIRALES V70-I-187, V70-I-199, V70-I-266, V71-I-82, MONKEYPOX (UTRECHT), VARIOLE (HARVEY) ET VACCINE (WYETH)<sup>a</sup>

	Quatre isolements Ouest africain	Monkeypox (Utrecht)	Variole (Harvey)	Vaccine (Wyeth)
Petites pustules à centre hémorragique sur MCA	<sup>b</sup> +	+	<sup>c</sup>	<sup>d</sup>
Plage en culture cellulaire (VERO)	grande	grande	petite	grande
Réaction hémorragique sur derme de lapin	forte	forte	absente	faible
Croissance sur MCA à 39°	+	+	-	+
Croissance sur MCA à 39,5° C	-	-	-	+
Létalité pour l'embryon de poulet (valeur D <sub>4</sub> ) <sup>e</sup>	10 <sup>2,1</sup> (moyenne)	10 <sup>2,2</sup>	10 <sup>5,0</sup>	10 <sup>2,2</sup>
Létalité pour le souriceau à la mamelle (valeur D <sub>4</sub> ) <sup>e,f</sup>	10 <sup>3,0</sup> (moyenne)	10 <sup>3,1</sup>	10 <sup>6,2</sup>	10 <sup>5,6</sup>
<p><sup>a</sup> Y compris certains résultats de Lourie et al.<sup>7</sup></p> <p><sup>b</sup> V71-I-82 excepté qui donne des pustules difficiles à distinguer à celles de la variole (Harvey).</p> <p><sup>c</sup> Petites pustules sans centre hémorragique.</p> <p><sup>d</sup> Très grandes pustules.</p> <p><sup>e</sup> Valeur D<sub>4</sub> = dose de virus pour laquelle la moyenne harmonique du temps de survie est de 4 jours.</p> <p><sup>f</sup> Souris inoculée par voie intracérébrale uniquement.</p>				