



MİKROBİYOLOJİ BÜLTENİ

CILT : 14

TEMMUZ — 1980

SAYI : 3

ÖZGÜN ÇALIŞMALAR

(Mikrobiyol. Bült., 14 : 189 - 196, 1980)

CYTOMEGALOVİRUS ANTİJENİNİN VARİCELLA - ZOSTER VİRUS İLE HERPES SIMPLEX VİRUS TİP I ANTİJENLERİ İLE İLİŞKİSİ

RELATIONSHIP BETWEEN CYTOMEGALOVIRUS ANTIGEN AND
VARICELLA - ZOSTER, HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE I ANTIGENS

Vasfi Kaynar*

Özet : Cytomegalovirus hepatitili 21, suçiçekli 4, herpes simplexli 7 hastanın toplam 64 serumuna, Cytomegalovirus, Varicella-Zoster virus, Herpes simplex virus tip I antijenleri ile kompleman fiksasyon testi uygulandı. Cytomegalovirus hepatitili hastaların serumlarında cytomegalovirus kompleman fikse eden antikorların titresinde belirli bir artma olduğu halde, varicella-zoster virus ve herpes simplex virus antikor titrelerinde bir artma ve çapraz reaksiyon vermediği, cytomegalovirus infeksiyonunun tanımında kompleman fiksasyon testinin güvenilir ve özgül bir test olarak kullanılabileceği kanısı belirtildi.

Summary : 64 sera from 21 patients with cytomegalovirus hepatitis, 4 patients with varicella and 7 patients with herpes simplex infections were examined for antibodies against cytomegalovirus, varicella-zoster virus and herpes simplex virus tip I antigens by complement fixation test. In conclusion, it is clear that there is no cross reaction between cytomegalovirus antigen and varicella-zoster and herpes simplex virus tip I antigens. Complement fixation test is a sensitive and inexpensive test and is potentially of great use in the diagnosis of cytomegalovirus infection.

Giriş

Cytomegalovirus (CMV) dünyanın her yerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Virus 150 - 190 nm çapında, DNA'sı $80 - 90 \times 10^6$ molekü-

(Dergiye verildiği tarih : 17/10/1979)

* Doç. Dr. 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı Öğretim Üyesi, Samsun, Türkiye.

ler ağırlığında olup, % 58 oranında Guanin - Cytosin kapsamaktadır. CMV özellikle insan embriyonu fibroblast hücrelerinden yapılan doku kültürlerinde üretilmiştir (8, 12, 18). CMV ile infekte olan kişilerin dokularının epitel ve mezansim hücrelerinde 30 - 40 mikron çapında büyük hücreler oluşmaktadır. Sitomegalik hücreler, 9 mikron çapında, eozinofil, intranükleer ve 0.5 - 3 mikron çapında, bazofil, intrasitoplazmik inklüzyon cisimciklerini içerirler (4, 5, 15).

CMV infeksiyonunun tanımına, virus izolasyonu, presipitasyon gel, indirekt hemaglutinasyon, indirekt fluoresan antikor, nötralizasyon, kompleman fiksasyon gibi serolojik testlerle veya intranükleer inklüzyon cisimcikli sitomegalik hücrelerin saptanması yolu ile gidilmektedir (2, 3, 6, 7, 8, 10, 14, 19).

CMV infeksiyonunun tanımında ve sero-epidemiyojik araştırmalarda kompleman fiksasyon (CF) testi, çabuk sonuç veren, güvenilir, özgül bir test olarak geniş ölçüde uygulanmaktadır (1, 2, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 20).

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Ankara Univ. Tıp Fak. İnfeksiyon Hastalıkları Kliniğinde yapılmıştır. Viral hepatit tanısıyla yatan ve sonradan serolojik olarak CMV hepatit kanısına varılan 21, polikliniğe müracaat eden 4 süreçeli ve 7 herpes simplex'li hastanın steril koşullarda aralıklı 2 kez alınan kanlarının serumları ayrılarak -20°C'de saklandı. Toplam 64 seruma aynı koşullarda, CMV, Varicella - Zoster Virus (VZV), Herpes Simplex virus tip I (HVH)抗原leri ile CF testi uygulandı.

Antijenler, pozitif serumlar, negatif antijenler, kompleman, hemolizin, Almanya'nın Behringwerke Laboratuvarından sağlanmıştır. Behringwerke'den sağladığımız (AD 169 - K - /Batch, No: 132 B) liyofilize CMV抗原i kullanılıncaya kadar + 4°C'de buzdollabında saklanmıştır. Reaksiyona başlarken önce 1 ml. arı suda eritildi. Saptanan 2 ünitelik titreye göre Veronal Buffer (V.B.) ile sulandırıldı.

Herpes simplex virus tip I抗原i (K - /Batch No: 201 U), Varicella-Zoster virus抗原i (K - /Batch No: 301 M) önce distile suda eritildi; saptanan 2 ünitelik titrelerde aynı tarzda V.B. ile sulandırıldı. Pozitif serumlar testten önce 56°C'de 30 dakika inaktive edildi; sonraki kullanmalarda ise 56°C'de 10 dakika benmaride tutuldu.

Kompleman (Merrschweinchen komplement K / Batch No: 126 B) kobaylardan elde edilmiş liyofilize edilmiştir. Kullanılmadan önce özel solüsyonunda eritilipli, yeter sayıda steril tüplere bölünerek -20°C'de

saklandı. Testte saptanan 2 ünitelik titre V.B. ile yapıldı ve içinde buz olan kapta tutularak kullanıldı. Hemolizin (Ambozeptor K / Batch No: 8102 A) koyun eritrositleri ile immünize olmuş tavşanlardan elde edilmiştir. Teste sokulmadan önce (1 ml hemolizin + 1 ml glycerin + 4 ml % 5'lük phenol + 94 ml V.B.) % 1 lik solüsyon hazırlandı. Bu stok solüsyon, saptanmış olan 2 ünitelik titre V.B. ile sululandırıldı. Kompleman fiksasyon mikrotiter yöntemiyle uygulandı. 1:4 dilüsyonda pozitiflik, antikor varlığı; 1:4 dilüsyonda negatiflik, antikor yokluğu olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

Serojistik olarak CMV hepatiti tanısıyla yatan 21, suçiçek'li 4, Herpes simpleks'li 7 hastada araştırma yapılmıştır. Hastalardan 2 kez alınan toplam 64 seruma CMV, VZV, HVH antijenleri ile CF testi uygulanmıştır. Tablo I'de görüldüğü gibi, 21 CMV hepatitli hasta serumlarının CMV CF antikorlarında 4. veya daha sonraki haftalarada 4 kat veya daha fazla titre yükselmesi olmuştur. VZV CF ve HVH CF antikorlarında 4 kat veya daha fazla titre yükselmesi olmamıştır. Tablo II'de görüldüğü gibi, 4 suçiçek'li hastanın 2 kez serumları alınmış; VZV CF antikor titresinde ilkine göre 5 kat artma olmuştur. CMV CF ve HVH CF antikorlarında 2 kattan fazla titre artması bulunmamıştır. Tablo III'de görüldüğü üzere, 7 Herpes simpleks'li hastadan 2 kez serum sağlanmış; antikor titresinde ilkine göre 4 - 5 kat artma saptanmıştır. CMV CF ve VZV CF antikorlarında ilkine göre 2. serumlarında titre 2 kattan fazla artmamıştır.

TABLO I — 21 HEPATİTLİNİN SERUMLARINDA CMV, HVH, VZV ANTİKOR TİRELERİ.

Hasta No:	Protokol No:			Cins	Günleri	Antikor Titreleri		
		Yaş				CMV	H VH	V ZV
1	206	38	K		32	4	32	16
					53	256	4	4
2	312	26	K		22	8	16	<4
					30	256	8	<4
3	372	70	E		22	8	4	<4
					42	256	4	<4

					30	64	16	<8
4	715	32	E		50	2048	8	4
5	815	24	K		2	32	32	<4
					15	512	16	<4
6	878	22	E		15	4	8	8
					42	512	4	<4
7	879	50	K		25	4	16	4
					32	256	4	4
8	904	26	K		10	8	8	<4
					38	256	8	<4
9	905	30	K		15	16	32	64
					96	512	32	4
10	913	22	E		16	8	16	8
					44	256	4	<4
11	934	30	E		7	32	64	4
					30	512	32	4
12	953	23	K		23	4	4	4
					38	256	16	4
13	1134	55	K		30	4	16	4
					37	256	8	4
14	1290	28	E		26	4	16	<4
					33	256	16	<4
15	1525	31	E		20	16	32	32
					35	256	32	64

16	1765	21	K	11	4	4	4
				46	256	4	<4
17	1948	25	K	20	4	32	4
				27	256	16	4
18	2012	44	E	15	32	16	16
				47	1024	8	4
19	2048	12	E	7	4	16	8
				25	256	32	16
20	2212	50	K	32	16	8	4
				60	512	8	4
21	2457	29	K	10	8	32	<4
				38	256	256	16

TABLO II — 4 SUÇİÇEKLİ'NİN SERUMLARINDA VZV, CMV, HVH ANTİKOR TİTRELERİ

Hasta No:	Yaş	Cins	Hastalık Günleri	Antikor Titreleri		
				VZV	CMV	H VH
1	7	K	4	<4	4	32
			35	128	4	32
2	9	K	10	8	16	64
			40	256	32	32
3	5	E	5	<4	16	32
			35	128	8	16
4	10	E	15	4	32	32
			45	128	32	64

TABLO III — 7 HERPES SIMPLEKS'LİNİN SERUMLARINDA HVH, CMV, VZV ANTIKOR TİTRELERİ

Hasta No:	Yaş	Cins	Hastalık Günleri	Antikor Titreleri		
				Hvh	Cmv	Vzv
1	25	E	4	16	16	8
			35	256	16	8
2	38	K	3	16	32	16
			38	256	128	8
3	10	E	5	8	4	8
			35	128	<4	16
4	16	E	2	8	32	1/6
			32	128	64	32
5	15	E	3	32	32	4
			35	512	8	8
6	7	K	8	16	<4	4
			40	256	<4	4
7	12	K	10	8	<4	16
			40	256	<4	8

Tartışma

CMV CF testinde AD 169 susu kullanılmakta ve özgül sonuç verdiği saptanmaktadır (8, 12, 13, 15). CMV infeksiyonunun sero-epidemiolojik araştırmalarda ve tanıımında CF testi, çabuk sonuç veren, özgül bir test olarak geniş ölçüde uygulanmaktadır. CMV'un herpes grubundan varicella-zoster, herpes simplex, Epstein-Barr virusla rıyla benzer antijen özelliklerini bulunduğu halde, uygulanan CF testinde çapraz reaksiyon vermediği, araştırcılar tarafından bildirilmiştir (14, 15, 17, 18). CF testinde CMV antijeninin kızamık, toxoplasma, influenza, parainfluenza, adenoviruslar, kabakulak antijenleri ve HB Ag arasında çapraz reaksiyon bulunmadığı bildirilmiştir (14, 18). Serolojik olarak CMV hepatit tanılı 21 hastanın serumlarında uygula-

nan CF testinde CMV antijeni, VZV ve HVH antijenleri ile çapraz reaksiyon vermemiştir. 4 suçiçekli hastanın serumlarında uygulanan CF testinde VZV antijeni CMV ve HVH antijenleri ile, 7 herpes simpleks'li hasta serumlarında uygulanan CF testinde HVH antijeninin CMV ve VZV antijenleri ile çapraz reaksiyon vermediği saptanmıştır. Sonuç olarak; CF testinde CMV antijeninin VZV ve HVH antijenleri ile çapraz reaksiyon vermediği, CMV CF testinin serolojik tariumda güvenilir bir test olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Armstrong, D., Balakrishan, S. L., Steger, L., et al.: A spectrum of cytomegalovirus infection during renal transplantation, *J. Clin. Invest.*, **48**: 3, 1969.
2. Beinstein, M.T., and Stewart, J.A.: Indirect hemagglutination test for detection of antibodies to cytomegalovirus, *Appl. Mikrobiol.*, **21**: 84, 1971.
3. Betts, R.F., et al.: Comparative activity of immunofluorescent antibody and Complement - fixing antibody in cytomegalovirus infection, *J. clin. Microbiol.*, **4**: 151, 1976.
4. David, J.L., John, F.K.: Cytomegalovirus in semen., *J. Infect. Dis.*, **132**: 472, 1975.
5. Deher, L.P., et al: Cytomegalovirus endometritis, *Am. J. Obs. Gyn.*, **45**: 211, 1975.
6. Hanshaw, J. B., Steinfeld, H. J., White, C.J.: Fluorescent-Antibody test for cytomegalovirus macroglobulin, *N. Eng. J. Med.*, **279**: 566, 1968.
7. Henson, D.: Cytomegalic inclusion disease following multiple blood transfusions, *JAMA*, **199**: 278, 1967.
8. Jordan, M.C., Rousseau, W.C., Stewart, J.A., Noble, G.R., and Chin D.Y.: Stontaneous cytomegalovirus mononucleosis, *Ann. In. Med.*, **79**: 153, 1973.
9. Kumar, M.L., Nonkervis, G.A., Gold, E.: Inapparent congenital cytomegalovirus infection, *N. Eng. J. Med.*, **288**: 1370, 1973.
10. Langenhuyzen, M. M. A. C.: Antibodies against gamma - globulin after blood transfusion and cytomegalovirus infection, *Clin. Exp. Immunol.*, **9**: 393, 1971.
11. Medley, C.M., Whyte, B.S., and Craighead, J.E.: Generalized cytomegalic inclusion disease after renal homotransplantation, *N. Eng. J. Med.*, **272**: 473, 1965.
12. Melnick, H.B., Vonke, V., Mayer, F.P., and Wimberg, L.: Human cytomegalovirus: properties of the complement - fixing antigen *J. Immunol.*, **96**: 261, 1966.
13. Monif, G., Hildebrend, R.J., Weber, J.M.: Prevalance of C - F antibodies to cytomegalovirus in a semirural southern country, *Am. J. obstet. Gynecol.*, **108**: 372, 1970.
14. Purcell, R.H., Wolsh, J.H., Holland, P.V., Marrov, A.G., Wood S., and Chanock, R.M.,: Seroepidemiological studies of transfusion associated hepatitis, *J. Infect. Dis.*, **123**: 409, 1971
15. Reynold, D.W., Stogno, S., Hosty, T.S., Tiller, M., Alferd, C.A. Jr.: Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection *N. Eng. J. Med.*, **289**: 1, 1973.
16. Solliven, M.P., Hanshaw, J.B., Congir, A., and Butler, J.J.: Cytomegalovirus complement fixing antibody levels of leukemic children, *JAMA*, **206**: 569, 1968.

17. Spencer, E.S., and andersen, H.K.: The development of immunofluorescent antibodies as compasid with complement fixing and virus neutralizing antibodies in human cytomegalovirus infection, Scand. J. Infect. Dis., **4** : 109, 1972.
18. Steer, J.G., Colofiore, D., and Cosey, H.L.: Experience with a human cytomegalovirus C.F. Antigen, Am. J. Epidemiol., **86** : 507, 1967.
19. Stevens, D.P., Barker, L.F., Ketchom., A.S., and Meyer, H.M., Jr: Asymptomatic cytomegalovirus infection following blood transfusion in tumor surgery, JAMA., **21** : 1341, 1970.
20. Yeager, A.S.: Transfusion acquired cytomegalovirus infection in Newborn infants, Am. J. Dis. Child., **128** : 478, 1974.