

Hayat Kadınlarında Genital Herpes Simpleks Virusu İnfeksiyonu Prevalansının Hücre Kültürü ve Enzim İmmünoessey Yöntemleri ile Saptanması

Gülden Yılmaz, Emel Bozkaya, Salih Türkoğlu, Selim Badur, Enver Tali Çetin

Özet: 70 hayat kadını hücre kültürü ve enzim immünoessey (EIA) yöntemi ile genital herpes simpleks virusu (HSV) infeksiyonu açısından taranmıştır. Bir kadından alınan servikal örnekte hücre kültürü ile HSV 2 üretilmiş ve bir başka kadından alınan örnekte ise EIA yöntemi ile HSV 2 araştırması pozitif sonuç vermiştir. Her iki yöntemin birlikte değerlendirilmesi sonucu İstanbul'da hayat kadınlarında HSV 2 ile genital infeksiyon prevalansı % 3 (70 kadında iki) olarak saptanmıştır. 70 kadından alınan iki örnekte *Trichomonas vaginalis* üremiştir.

Anahtar Sözcükler: Herpes simpleks virusu, genital herpes infeksiyonu

Summary: Detection of the prevalence of herpes simplex virus infection in prostitutes by cell culture and enzyme immunoassay. 70 prostitutes were screened for genital herpes simplex virus (HSV) infection by cell culture and enzyme immunoassay (EIA). In the cervical material from one woman, HSV 2 was detected by cell culture and in the material from another woman HSV 2 positivity was detected by EIA. As a result the prevalence of genital HSV 2 infection in prostitutes in Istanbul was found to be 3% (two in 70 women). In the two material *Trichomonas vaginalis* was detected by cell culture.

Key Words: Herpes simplex virus, genital herpes infection

Giriş

Herpes simpleks virusu 1 (HSV 1) ve herpes simpleks virusu 2 (HSV 2) ile infeksiyon insanlarda en sık karşılaşılan viral hastalıklar arasında yer almaktadır. İnfeksiyon duyarlı kişilerin mukozalarının virus ile yakın teması sonucu gelişir. İnsan HSV için tek konaktır. HSV infeksiyonları cinsel temasla bulaşan viral infeksiyonlar arasında önemli bir yere sahiptir. Gelişmiş ülkelerden bildirilen istatistik verilere göre son yıllarda genital HSV infeksiyonlarında artış olduğu görülmektedir. Sosyoekonomik düzeyi orta ve iyi olanlarda da yayılmakta olduğu saptanmıştır. Her ne kadar Avrupa ülkelerinde veriler yetersiz ise de genital HSV infeksiyonu sık karşılaşılan bir hastalık olarak bildirilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde bu konuda bilgi yetersizdir (1,2).

Bu çalışmada cinsel temasla bulaşan hastalıklar için risk grubunda bulunan hayat kadınlarında HSV infeksiyonu prevalansını saptamak için en duyarlı ve güvenilir yöntem olan hücre kültürü yöntemi ve hızlı tanıma önemi olan enzim immünoessey (EIA) yöntemi kullanılmıştır.

Yöntemler

70 hayat kadınından servikal örnek EIA ve hücre kültürü için iki ayrı ektüviyon ile alınmıştır. Hücre kültürü için alınan örnek "Hank's balanced salts" (Gibco), % 2 fetal dana serumu, penisilin G (100 U/ml), streptomisin (100 µg/ml) ve amfoterisin B (2 µg/ml) içeren transport besiyerine konmuştur. Buradan Hep 2 (insan larinks epidermoid kanseri) hücre kültürüne ekilmiş ve besiyeri olarak Medium 199 kullanılmıştır. 37°C'de iki hafta inkübe edilmiştir. Karakteristik sitopatik etki saptanan hücreler alınarak lam üzerinde kurutulduktan sonra 10 dakika asetonda tutarak fikse edilmiştir. Bu hücrelerde HSV idantifikasyonu ve tiplendirimi için monoklonal antikorlar ile direkt immünofluoresans yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla HSV tip 1-2 Pathfinder (Kallestad) kiti ile çalışılmıştır ve sonuçlar fluoresan mikroskopta

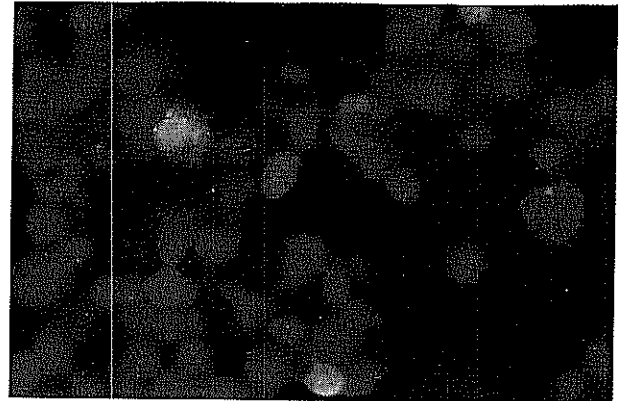
(Olympus BH2-RFL) 400'lük büyütmede incelenmiştir.

Sonuçlar

70 hayat kadınından birinin servikal örneğinin ekildiği hücre kültürü şişesinde 5. günde sitopatik etki saptanmıştır. Bu şişeden alınan hücrelere direkt immünofluoresans yöntemi uygulandığında üreyen virusun HSV 2 olduğu saptanmıştır (Şekil 1). Aynı kişinin örneğinde EIA ile negatif sonuç elde edilmiştir. Bir başka hayat kadınının servikal örneğinde ise hücre kültürü ile üreme saptanmadığı halde EIA ile pozitif sonuç alınmıştır. İki hayat kadınından alınan servikal örneğin ekildiği hücre kültüründe *Trichomonas vaginalis* üremesi saptanmıştır.

İrdeleme

HSV'nin en önemli özelliklerinden biri diğer herpes grubu virüslerde olduğu gibi ilk infeksiyonu takiben latent in-



Şekil 1. Sitopatik etki saptanan HEP 2 hücrelerinin DFA yöntemi ile boyanma sonucu (HSV ile infekte hücre: sarı-yeşil renkte infekte olmayan hücre: kırmızı renkte)

feksiyon oluşturmaktadır. Latent infeksiyon sırasında periyodik olarak reaktivasyonlar oluşmakta ve bu dönemde klinik bulgular oluşabileceği gibi sadece virus atılımının söz konusu olduğu asemptomatik reaktivasyon da görülebilmektedir. İşte bu özellik HSV ile ilgili epidemiyolojik çalışmaları güçleştirmektedir. Genital HSV infeksiyonunun bulaşması ya asemptomatik kişiden ya da belirgin herpetik lezyonu olmayan asemptomatik infeksiyonlu kişilerden olmaktadır. Asemptomatik herpes atılımı iki şekilde olmaktadır. Daha önce klinik bulguları ile HSV infeksiyonu geçirmiş kişi dönem dönem klinik bulgu vermeden virus salgılayabilmektedir. Tekrarlayan genital herpesi olan kadınlarda semptomsuz dönemde incelendiklerinde % 4-14'ünde HSV izole edilmiştir. İkinci grubu ise daha önce klinik olarak herpes infeksiyonu geçirmemiş olup dönem dönem asemptomatik olarak virus atılımının söz konusu olduğu kişiler oluşturur. Bu tür HSV atılım erişkinlerin % 1-5'inde, ufak çocukların % 18-20'sinde ve kadınların % 1-15'inde saptanmıştır (1).

Cinsel temasla bulaşan hastalıklar klinikleri özellikle Amerika Birleşik Devletleri (ABD), İngiltere ve İsveç'te HSV infeksiyonu prevalansı ile ilgili temel bilgileri sağlamaktadır. ABD'de her yıl 500 000 yeni HSV infeksiyonu geliştiği tahmin edilmektedir. Sağlıklı kadınlarda genital HSV infeksiyonu prevalansı % 0.09-0.24 olarak bildirilmektedir. Cinsel temasla bulaşan hastalıklar kliniklerine başvuranlar arasında ise çalışılan gruba bağlı olarak bu oran % 0.002, % 3, % 7 arasında değişmektedir. Kadınların ve özellikle hayat kadınlarının bu infeksiyona yüksek oranda yakalandıkları bildirilmektedir. HSV atılımının sıklığının yaş ile bağlantılı olduğunu gösterilmiştir. Genç hayat kadınlarında (20-29 yaş) virus atılımının % 12 ve daha yaşlılarda % 6 oranında olduğu bildirilmektedir.

HSV 2 ile infeksiyona yakalanma oranını artıran faktörler belirlenmiştir. Kadınlar erkeklerden, zenciler beyazlardan, şehirlerde yaşayanlar kırsal kesimde yaşayanlardan daha sık olarak HSV 2 infeksiyonuna yakalanmaktadır (3).

Bu çalışmada hayat kadınlarında HSV 2 infeksiyonu prevalansı, hücre kültürü ve EIA sonuçları birlikte değerlendirildiğinde % 3 olarak saptanmıştır. Infekte salgılardan ve dokulardan HSV'nin hücre kültüründe üretilmesi herpes simpleks virusu infeksiyonu tanısında en yaygın olarak kullanılan ve en duyarlı olan tanı yöntemidir. Bu amaçla alınan örnek uygun bir transport besiyerine alınır ve eğer ekim işlemine kadar birkaç saat geçecek ise 4°C'de bekletilir. HSV tüm primer hücre kültürlerinde ve memeli kaynaklı hücre kültürlerinde üreyebilir. HSV şişme ve infekte hücrenin yuvarlaklaşması ile karakterize tipik sitopatik etki yaparak hücre kültüründe ürer. Genelde sitopatik etki 3 gün içinde oluşur. Nadiren bir haftayı gerektirebilir. Gerçekten virus içeren örneklerin % 50'si 24 saat içinde sitopatik etki gösterirler (2). Bu çalışmada örnekler iki hafta inkübe edilmiştir (4). Hücre kültüründe sitopatik etki yapan virusların identifikasyonunda ve tiplendiriminde kullanılan yöntemler nötralizasyon deneyi, immünofluoresans yöntemi, EIA ve immünoperoksidaz testleridir. Nötralizasyon deneyi klasik, ancak zaman alıcı ve pahalı bir yöntemdir. Bu nedenle diğer yöntemler tercih edilmektedir. Bu çalışmada da identifikasyon ve tiplendirme için

direkt immünofluoresans yöntemi kullanılmıştır (1). HSV infeksiyonları tanısında kullanılan diğer yöntemler, infekte doku ya da salgılarda viral antijenin tayini ve serolojik testlerdir. Bu yöntemlerin duyarlılığı örnekteki virus miktarına bağlıdır. Örneğin lezyon aşamasında kabuklanmış lezyona göre vezikül ve ülserlerde daha çok virus bulunur. Primer infeksiyonda ve immüno-supresyon altındaki hastada virus atılımı reaktivasyona ve sağlıklı kişiye oranla daha fazladır. HSV infeksiyonunun hızlı tanısında kullanılan yöntemler arasında direkt alınan örnekte virus antijeninin immünofluoresans ve EIA yöntemleri ile saptanması ve HSV nükleik asidinin DNA hibridizasyonu ile tayini sayılabilir. Bu yöntemlerin avantajı canlı virusa ihtiyacın olmayışıdır. Ancak duyarlılıkları kültüre kıyasla azdır. Bu çalışmada 70 hayat kadınından birinde hücre kültürü ile HSV 2 saptandığı halde EIA ile negatif sonuç alınmıştır. Genital HSV infeksiyonlu asemptomatik kişilerde virus titresinin semptomlulara kıyasla 10-100 kez düşük olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle asemptomatik kadınlarda servikal örnekten antijen tayin yöntemleri kültüre kıyasla daha az duyarlı olmaktadır. Oysa başka bir kadında EIA ile HSV 2 saptanırken kültürde üretilmemiştir. Hayat kadınlarının rutin muayenelerinden önce sağlıklı saptanabilmek için genital bölgelerine lavaj uyguladıkları öğrenilmiştir. Bu lavajın canlı virusu saptayabilen kültür yönteminin sonucunu olumsuz etkilediği sonucuna varılmıştır. Oysa canlı virusa ihtiyaç bulunmayan EIA yöntemi ile pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu nedenle her iki yöntemin sonucu birlikte değerlendirilerek İstanbul'da hayat kadınlarında genital HSV infeksiyonu prevalansının % 3 olduğu saptanmıştır (1,5,6,7).

Kaynaklar

1. Adrian M. *Herpes Simplex Virus*. Londra: Springer-Verlag, 1989: 33.
2. Lycke E, Jenson S. Herpesviridae, Herpes simplex virus. In: Lenette EH, Halonen P, Murphy FA, eds. *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practice. Vol II. Viral, Rickettsial, and Chlamydial Diseases*. New York: Springer Verlag, 1988: 211-29.
3. Whitley RJ. Herpes simplex virus. In: Bernard NF, David MK, Robert MC, Martin SH, Joseph LM, Thomas PM, Bernard R eds. *Virology*. New York: Raven Press, 1990: 1843-87.
4. Dascal A, Chan-thim J, Morahan M, Portnoy J, Mendelson. Diagnosis of herpes simplex virus infection in a clinical setting by a direct antigen detection enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 700-4.
5. Warford AL, Chung JW, Drill A, Steinberg E. Amplification techniques for detection of herpes simplex virus in neonatal and maternal genital specimens obtained at delivery. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1324-8.
6. Pruneda R, Almanza I. Centrifugation-shell vial technique for rapid detection of herpes simplex virus cytopathic effect in vero cells. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 423-4.
7. Salmon VC, Turner RB, Speranza MJ, Overall JC. Rapid detection of herpes simplex virus in clinical specimens by centrifugation and immunoperoxidase staining. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 683-6.