

## **OBSTETRİKLE İLGİLİ SORUNLARI BULUNAN ANNELERİN SERUMUNDA VE BEBEĞİN KORDON SERUMUNDA, ELISA İLE HSV-2 IgM'NİN ARAŞTIRILMASI**

*Lügen CENGİZ (\*), A. Tevfik CENGİZ (\*\*), Mehmet KIYAN (\*\*),  
Fadıl KARA (\*\*\*), M. Şahin UĞURLUER (\*\*)*

*Anahtar Terimler:*

*Key Words:*

### **ÖZET**

Bu çalışmada düşük, ölü doğum yapma ve prematürite gibi obstetrik ile ilgili çeşitli sorunları bulunan annelerin serumunda ve bebeğin kordon serumunda Elisa ile HSV-2 IgM antikoru araştırılmıştır. Çalışma grubumuzu ölü veya erken doğum yapma, abortus ve anomalili bebek doğumu yapma gibi patolojik gebelikler oluşturmaktadır. Anne-kordon serumunda 2 pozitiflik saptanırken, 4 anne serumunda HSV-2 IgM pozitif, ancak kordon serumlarında negatif bulunmuştur. Anne seropozitivitesi abortus (2 olgu), ölü doğum (3 olgu), ve anensefali (1 olgu) olgularında saptanmıştır. Kordon kanında HSV-2 IgM pozitif bulunan 2 gebelik abortusla sonuçlanmıştır.

### **SUMMARY**

#### **DETECTION OF HSV-2 IgM WITH ELISA IN SERA OF THE MOTHER WITH OBSTETRIC PROBLEMS AND SERA OF BABY'S CORD**

In this study, we have investigated HSV-2 IgM with ELISA, in sera of the mother with obstetric problems such as stillbirth, prematurity and abortus and sera of baby's cord. Pathological pregnancies such as stillbirth abortus and congenital anomaly have been enrolled in this study. Whereas HSV-2 IgM was found positive in two cases of both mother and cord sera; in four cases, seropositivity was found in a sera of mother but not in cord sera. The mother's seropositivity was obtained in cases of abortus (2 cases), stillbirth (3 cases) and anencephaly (1 case). 2 pregnancies who have their babies' cord sera positive for HSV-2 IgM, have been resulted with abortus.

\* A.Ü., Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve doğum Ana Bilim Dalı.

\*\* A.Ü., Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı.

\*\*\* Sağlık Bakanlığı, Zübeyde Hanım Doğumevi.

## GİRİŞ

Cinsel temasla geçen hastalıklar, viral üst solunum yolu infeksiyonlarından sonra, infeksiyon hastalıklarının ikinci büyük grubunu oluşturmakta ve bunların %65'inden fazlası 25 yaşın altında görülmektedir (1). ABD'de, 1986'da 13 milyon cinsel temasla geçen hastalık bildiriminde bulunulmuş ve aşağıdaki dağılım rapor edilmiştir (2).

Gonore	1.800.000
Chlamydia İnf.	4.000.000
Müköpürülan Servisitisi	
(Non-gonococcic, Non- Ch. Trachomatis)	1.000.000
Üretritis	
(Non-gonococcic, Non-Ch. trachomatis)	1.200.000
Herpes (Yeni olgular)	500.000
Human papillomavirus İnf.	1.000.000
Hepatitis B	200.000
Sifiliz	85.000
Trichomoniasis	3.000.000

Bu tabloda görüldüğü üzere, yeni herpes olguları da önemli bir grubu oluşturmaktadır. Serviksten asemptomatik viral yayılım prevalansı %0.1-0.4 olarak açıklanmıştır. Çocuğun rekürren infeksiyonlarda virusu alma olasılığı %0.8 iken, annenin primer infeksiyonlarında %50 oranı elde edilebilmektedir (3,4,5) Neonatal herpes genellikle anneden geçmektedir. Rüptüre membran veya infekte doğum kanalı önemli bulaşma yolları durumundadır. HSV aynı zamanda, yeni doğanın saçlı derisine konan elektrodlar, forseps gibi araçlarla veya aile bireylerinin yakın teması ile de geçebilmektedir. Bundan dolayı herpes lezyonlarından çocuğu korumak için, direkt temasın önlenmesinin büyük yararları vardır (4,6,7,8)

Virusun çeşitli yollardan organizmaya girmesiyle Herpes simplex infeksiyonu gelişmekte ve akut dönem hümorale yanıtında IgM tipi antikorlar ortaya çıkmaktadır. HSV IgM, konjenital HSV infeksiyonlarında, özellikle bebekler ve küçük çocuklarda pozitiflik göstermektedir. HSV IgM aktif infeksiyonu veya latent infeksiyonunun reaktivasyonunu göstermektedir. Bu antikorlar çeşitli yöntemlerle ölçülebilmekte ve ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay) yöntemi spesifik HSV IgM antikorlarını ortaya çıkaran, kıymetli bir tanı aracı olma niteliğini, günümüzde de korumaktadır (9,10,11).

Biz de bu çalışmamızda patolojik gebeliği bulunan ve prematürite, postmatürite ve intrauterin gelişme geriliği ile doğumsal anomali sorunları belirlenen 73 anne-bebek ikilisinin serumlarında HSV-2 IgM antikorlarını, ELISA ile araştırdık ve bulgularımızı değerlendirdik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

A.Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı ile Sağlık Bakanlığı

Zübeyde Hanım Doğum Evi'nde ölü veya erken doğum, anomalili bebek doğumu ve abortus gibi çeşitli obstetrik sorunlarıyla incelenen 73 anne serumu ile bebeklerine ait kordon serumlarında Elisa ile, HSV-2 IgM antikorları araştırılmıştır.

Ana Bilim Dalı'mızda bulunan El Microplate Reader ve Model E1 402 Automated Microplate Washer'den oluşan Elisa cihazında, HSV-2 ile kaplı pürifiye antijenler kullanarak, spesifik antikor varlığında meydana gelen renklemenin, 490 nm dalga boyunca değerlendirimi yapmıştır. Bunun için Pharmacia Diagnostic 1nc. Herpes Simplex-2 IgM (Mst Lot Number:6956) test kitleri kullanılmış ve deneyler, test kiti önerilerine göre yapmıştır. Bu kit için factor:0.50 olarak belirlenmiş ve ISR: Hasta serumu absorbanı hesaplanmasına gidilmiştir. Bu testte pürifiye anti-

#### Cut-off

jenler ve tamponla sulandırılmış serumlarla, microassay plaklarında bir kompleks oluşumu sağlanmaktadır. Tamponla yıkama işleminden sonra, çukurcuklara enzim işaretli IgM konulmakta, ikinci yıkama işlemlerinden sonra da, enzim substratı eklenmektedir (12,13,14).

## BULGULAR

Çalışma grubumuzun yaş grubuna dağılımı belirlenmiş ve 21-25 yaş grubunda 28 olgu, 26-30 yaş grubunda 24 olgu tesbit edilmiştir. Tablo-1'de görüldüğü üzere anne serumunda HSV-2 IgM pozitiflik oranı 6/73 (% 8.22) ve negatiflik oranı 67/73(%91.78) olarak belirlenmiştir. Olgu sayıları dikkate alındığında, bu antikorun yaş grubuna dağılımında belirgin bir üstünlük gözlenmemiştir. Ancak 18-20 yaş grubunda 11 olgudan 2'sinde ve 21-25 yaş grubunda 28 olgudan 3'ünde HSV-2 IgM antikorları bulunmuştur.

**Tablo-1: Anne serumu HSV-2 IgM antikorlarının yaş grubu dağılımı ve pozitiflik oranları**

Yaş Grubu	HSV-2 IgM		Toplam
	Pozitif	Negatif	
18-20	2	9	11
21-25	3	25	28
26-30	1	23	24
31-35	-	9	9
36-40	-	1	1
40 üstü	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>6</b>	<b>67</b>	<b>73</b>

Anne serumunda HSV-2 IgM pozitiflik oranı % 8.22 iken, kordon serumunda bu oran 2/73(%2.74) şeklinde bulunmuştur. HSV-2 IgM anne serumunda %91.78 oranında negatiflik göstermesine karşılık, kordon serumunda 71/73(%97.26) negatiflik vermiştir.

**Tablo-2: Anne-kordon serumunda HSV-2 IgM antikorlarının dağılımı**

Anne serumu HSV-2 IgM	Kordon serumu HSV-2 IgM		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Pozitif	2	4	6
Negatif	-	67	67
<b>Toplam</b>	<b>2</b>	<b>71</b>	<b>73</b>

Bu tabloda görüldüğü üzere anne-kordon serumunda 2 pozitiflik saptanırken, 4 anne serumunda HSV-2 IgM pozitif, ancak kordon serumlarında negatif bulunmuştur. Bu olgulardan 67 sinde ise hem anne hem de kordon serumu HSV-2 IgM'si negatif sonuç vermiştir.

Çalışma grubumuzu ölü veya erken doğum yapma, abortus ve anomalili bebek doğumu yapma gibi patolojik gebelikler oluşturmaktadır. Anne seropozitivitesi abortus (15), ölü doğum (16) ve anensefali (17) olgularında saptanmıştır. Abortusla sonuçlanan 2 gebelik kordon kanında HSV-2 IgM pozitif bulunurken, ölü doğan 3 bebeğin ve anensefalili doğan bir bebeğin kordan kanında HSV-2 IgM saptanmıştır.

**Tablo-3: Anne-kordon serumu HSV-2 IgM seropozitivitesi**

Gebeliğin Durumu	Anne serumu		Kordon serumu		Toplam
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
Abortus	2	24	2	24	26
Ölü bebek	3	14	-	17	17
Anensefalili bebek	1	6	-	7	7
<b>Toplam</b>	<b>6</b>	<b>44</b>	<b>2</b>	<b>48</b>	<b>50</b>

HSV-2 IgM pozitif olgularla ilgili bulgularımız ve özellikle aşağıda iki şekilde tesbit edilmiştir.

Olgu-1: K:B, 25 y, 2. düşük yapma

Olgu-2: N.T, 25 y, 1. düşük anamnezi

Olgu-3: M.S, 20 y, İntrauterin, massere ölü doğum

Olgu-4: A.A, 18 y, İntra uterin ölü doğum ve dolikosefali, bilateral pes eqino varus anomalileri, hepatosplenomegali, asit

Olgu-5: MG, 28 y, 30 haftalık, anensefalik bebek

Olgu-6: N.K, 25 y, 1500 gX39 cm, intrauterin ölü bebek.

## TARTIŞMA

Bu çalışmamızda ölü doğum yapan (18), düşük yapan (8), intrauterin gelişme geriliği olan bebek doğumu yapan (1), prematürite sorunu bulunan (19), postmatürite sorunu bulunan (1) ve anomalili bebek doğumu yapan (19) olmak üzere 73, değişik yaş grubunda bulunan, anne serumunda ve bebek kordon serumlarında, Elisa

yöntemi ile HSV-2 IgM antikorları belirlenmiştir. Bazı bebeklerde birden çok patoloji tesbit edilmiş, ancak ağırlıklı olan bozukluk esas alınmıştır. Dünyada ve ülkemizde HSV-2, kompleman fikse eden antikor varlığı ile araştırılmıştır. Bu yöntem duyarlı ve özgün olarak açıklanmıştır (3,16,20,21).

Ancak IgG ve IgM antikorlarını göstermek üzere Elisa da yaygın olarak kullanılmaktadır (15,22). Bu testlerde saptanan antikorlar, çapraz reaksiyonlar nedeniyle, HSV-1 veya HSV-2 ile ilgili olabilir. Hem akut, hem de nekahat döneminde serum alınabilirse, infeksiyonun primer veya rekürren olduğu saptanabilir. Primer infeksiyonda alınan akut dönem serumu, 2-3 hafta sonra alınan nekahat dönemi serumuyla karşılaştırıldığında, 4 kat veya daha fazla titre artışı ortaya konabilir. Rekürren infeksiyonlarda bu titre artışı yoktur (3,21,23).

Akut infeksiyon göstergesi kabul edilen spesiik IgM'nin incelendiği bu çalışmada, HSV-2'nin obstetrikteki yeri ve önemi üzerinde durulmuştur. Çünkü konjenital HSV infeksiyonlarında sıklıkla mikrosefali, korioretinit, mikroftalmi, hepatosplenomegali, düşük ağırlıklı bebek doğumları görülmektedir (17,19,24,25) HSV yeni doğanda karaciğer ve SSS gibi, diğer organları da yakından ilgilendiren dissemine, sistemik bir infeksiyona neden olmaktadır. Bu olgularda antiviral tedavi mortaliteyi ancak %75'den %40'a düşürebilmekte ve sağ kalanların ancak 1/3'ü 1 yaşında normal fonksiyonlarını yapabilmektedir (26). Bizim çalışmamızda 73 anneden 6'sında HSV-2 IgM antikorları bulunmuş ve %2.74 seropozitiflik elde edilmiştir. Bunun dışındaki diğer dört olguda ya ölçülebilir düzeyde HSV-2 IgM gelişmemiştir veya izlenen patolojilerin HSV-2 infeksiyonu ile doğrudan ilişkisi bulunmaktadır. Abortus yapan iki olguda ki HSV-2 IgM pozitifliği, anne-bebek ikilisinin aktif infeksiyonu şeklinde düşünülmüş, ancak diğer etken faktörlerinin de elimine edilmesi kanaatine varılmıştır. Bu bulgumuz prematürite, postmatürite, abortus gibi sorunlarda veya erken, ölü veya anomalili bebek doğumu ile sonuçlanan gebeliklerde, TORCH etkenleri içinde herpesin de hatırlanması gereğini yansıtmaktadır.

Gebe kadınlarda genital herpes prevalansı, farklı toplumlarda büyük değişkenlik göstermektedir (27). Benzer şekilde neonatal HSV insidansında da büyük farklılıklar vardır (18). İngiltere'de 1987-1988'de 36 neonatal herpes olgusu açıklanmıştır. Bazı olguların tanısı konulmadığından veya bildirilmediğinden bu rakamlar, muhtemelen gerçek insidansı yansıtmamaktadır. (18). ABD'de 5000 doğumda 1(%0.02) dolaylarında gerçek bir insidans tahmin edilmektedir (28). ABD'de 15 yaşın üzerindeki kadınlarda, serolojik olarak genital herpes prevalansı (%19) olarak açıklanmıştır (29). ABD'de, 1986'da 500.000 yeni herpes olgusu bildirilmiştir (1). Bizim çalışmamızda anne seropozitivitesi %8.22 ve bebek seropozitivitesi %2.74 şeklinde belirlenmiştir. Ancak yüksek sayılabilecek bu oranlar, patolojik gebelikler üzerinde yapılmış ve gebeliği sağlıklı bebek doğumu ile sonuçlanan bireyler kapsam dışı bırakılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Zenilman J: Sexually transmitted Diseases in homosexual adolescents. *J Adoles Health Care* 9:129,1988.
2. Division of Sexually Transmitted Diseases-Atlanta:Centers for Disease Control, Annual Report, 1986.
3. Mert GJ: Diagnosis and treatment of genital herpes infections. *Infect Dis Clin North Am* 1: 341, 1987.
4. Stagno H, Whitley RJ: Herpes virus infections of pregnancy. *N engl J Med* 313: 1327, 1985.
5. Sweenson RM: Herpes simplex virus genital infections. *Clin Ther* 8:2, 1986.
6. Douglas JM, Corey L: Fomite and Herpes Simplex Viruses: A case of non-venereal transmission. *JAMA* 250:3093,1983.
7. Larson T, Bryson YJ:Fomites and Herpes simplex virus. *J Infect dis* 151:746,1985.
8. Whitley RJ, Nahmias AJ, Visintine AM: The natural history of Herpes simplex virus infections of mother and newborn. *Pediatrics* 66:489,1980.
9. Halbert SP, Kiefer DJ et al: Antibody levels to Cytomegalovirus, Herpes simplex virus and Rubella in Patients with acquired immune deficiency syndrome.
10. Hayward AR, Herbenger NJ et al : Specific immunity after congenital or neonatal infections-with Cytomegalovirus or Herpes Simplex Virus. *J Immunol* 133: 2469, 1984.
11. Kangro HO, Booth JC et al: Detection of IgM antibodies against Cytomegalovirus: Comparison of the radioimmunoassays, enzyme linked immunosorbent assay and immunofluorescent antibody test: *J Med Virol* 14: 73, 1984.
12. Engwall E, Perlmann P: Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa) quantitative assay of Immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8:871, 1974.
13. Nielsen SL, Sorensen I, Andersen HK: Kinetics of specific immunoglobulin M,E,A and G, in congenital, primary and secondary cytomegalovirus infection studied by antibody capture enzyme linked immunosorbent assay, *J Clin Microbiol* 26:654,1988.
14. Scotch JC, Saumington C et al: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, radioimmunosassay, complement fixation, anticomplement immunofluorescence and passive haemagglutination techniques for detecting Cytomegalovirus IgG antibody. *J Clin Pathol* 35:1345, 1982.
15. Brandt JK, Kettering JD, Lewis JE: Immunity of human cytomegalovirus measured and compared by complement fixation, indirect fluorescent antibody, indirect haemagglutination and enzyme linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 19:147,1984.
16. Davis LE, Redman JC, Skipper BJ et al: Natural history of frequent recurrences of herpes simplex labialis. *Oral Surg* 66:5,1988.
17. Albert G, Plotkin SA: A practical guide to the diagnosis of congenital infectious in the newborn infant. *Pediatr Clin North Am* 33:465, 1986.
18. Lissauer T, Jeffries D: Preventing neonatal herpes infection. *Brit J Obstet Gynaecol* 96:1015, 1989.
19. Kaya İS, Dilmen U, Gökşin E-laleli Y: Gebelik, Ölüm doğum ve düşüklerde sitomegalovirus, herpes ve sifilis enfeksiyonları. *Doğa* 14:285, 1990.
20. Gold D, Corey L: Treatment of Herpes Simplex Virus Infections. *Clin Lab. Med* 7:4,1987.
21. Lafferty N: Genetal herpes: Recommendations for comprehensive care. *Post Grad Med* 83:2,1988.
22. Ustaçelebi Ş, Köksal L, Cantürk H, Saify SJ, Ersöz D, Sellioğlu b: Hamilelikte TORCH etkenlerine karşı antikorların saptanması, *mikrobiol Bül* 20:1, 1986.
23. Mertens T, Eggers HJ: Chronic Herpes simplex virus and Varicella zoster virus infectior. *J Virol Meth* 21:61,1988.
24. Gibbs RS, Amstey MS, Sweet RL et al: Management of genital herpes infection in pregnancy. *Obstet Gynecol* 71:779,1988.

25. Hunter K, Stagno S, Capps E-Smiith RJ: Prenatal screening of pregnant women for infections caused by Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, Herpes Virus, Rubella and Toxoplasma gondi. *Am J Obstet Gynecol* 145:256,1983.
26. Whitley RJ, Yeager A, Kartus P, Bryson Y, Conner JD, NahmiasAJ-Soong SJ(NIAID Collaborative antiviral study Grudy): Neonatal herpes simplex infection: Folow-up evaluation of vidarabine therapy. *Pediatrics* 72:778, 1983.
27. Nahmias AJ, Keyserling HL, Kerrick CM: Herpes simplex: In *Infectious Diseases of the fetus and newborn infant* (Remington JS, Klein JO. ens) W.B.Saunders Philadelphia. P:638,1983.
28. Whitley RJ: Herpes simplex virus infections. In *Infectious Diseases of the fetus and newborn infant* (Klein JO, Remington JS ends) WB Sauroers, Philadelphia, 1987.
29. Johnson RE, Nahmias AJ, Magder LS, Lee FK, Brooks CA, Snowden CB:A seroepidemi ological survey of the prevalence of herpes simplex virus type 2 infection in the United States. *N Eng J Med* 321:7.1989.