

Tapasztalatok kétféle (S és V) mumps antigennel végzett szerológiai vizsgálatokkal

Írta: Nikodémusz István dr.

A komplement kötést a parotitis szerodiagnosztikájában először *Enders* és *Cohen* (1) vezették be, fertőzött majom parotist használva antigenként. Később *Rocchi* (2), *Habel* (3), *Levens* és *Enders* (4) majom fültőmirigy helyett fertőzött tojás amnion és allantois folyadékát alkalmazták, amelyet az előzőnél tisztábbnak és specifikusabbnak találtak. *Henle* és *Henle* (5) írta le, hogy mumpsvirus tojástenyésztésében két, egymástól elkülöníthető antigenfrakció mutatható ki, egy — a virus testhez kötött — ún. V-antigen és egy vízben oldható (solubilis) S-antigen.

Ezen utóbbi kb. 10 millimikron nagyságú fehérjemolekula, amelyhez hasonlít több, más virusstenyésztésben is felfedeztek (lyssa, herpes, influenza, psittacosis, lymphocytás choriomeningitis etc.). E vízőldékony antigenek szerepe vitatott. Egyesek a vírus külső hártya anyagának tartják, mások anyagcseretermékeknek tekintik — toxikus sajátosságot tulajdonítva neki, vagy nem —, ismét mások a vírus szaporodási ciklus során a komplett vírus előfutárának tartják (6).

Mint ezektől eltérő újabb nézetet, említjük meg *Seltzer* és *van den Ende* (7) véleményét, akik az S-antigent csupán haptennek tekintik.

Az kétségtelen, hogy az S-antigen kevésbé specifikus, mint a vírus test-antigenek, inkább fajspecifitással rendelkeznek és az egyes törzsek között fennálló finomabb típusantigen különbségek kimutatására nem alkalmas. Csak példaként említjük meg, hogy míg az influenza A és A₁ vírusok V-antigenjei egymástól meglehetősen eltérnek, addig a két alfaj által termelt S-antigen nem különbözik egymástól (6). Az S-antigen ellen keletkezett antitest előbb jelenik meg a vérben és előbb tűnik is el onnan, mint a V-antigennel reagáló antitest. Ezért a két antigennel elvégzett komplementkötések tájékoztatást adnak arra nézve, hogy a szóban forgó betegség régebbi, vagy újabb keletű és még fontosabb adatokat adhatnak 1—1 kollektíva járványtani átszűrése kapcsán, amikor is e két antigennel megállapítható, hogy ki esett át régebben, vagy kevésbé régen a megbetegedésen, vagy — ami csak így mutatható ki — a latens fertőzésen. E két antigen — legalábbis mumpsvirus esetén — az embrió különböző részeiben helyezkedik el. A V-antigen főleg az amnion és allantois folyadékban, míg az S-antigen a membránokban található. V-antigen a membránokban jóformán nincs, viszont az S-antigen, ha kisebb mértékben is, kimutatható az embrió folyadékaiban. A komplementkötésre széles körben használt allantois folyadék az elmondottak alapján nagy mennyiségű V-antigent és kis mennyiségű S-antigent

tartalmaz, de tartalmaz tojásfehérjét is nagyobb mennyiségben. Emiatt az esetek 3—4 százalékában nem specifikus kötéseket adhat (8). Ezen okok miatt több eljárást dolgoztak ki, hogy a két antigent tisztán és koncentráltan előállítsák.

Jelen vizsgálatainknak az volt a célja, hogy a két antigent tisztán előállítsuk és a két antigennel kapott reakciók eredményeit értékeljük.

Metodika: V-antigenként a fent elmondottak ellenére allantois folyadékot használtunk mert bár több V-antigen tisztítási módszer ismeretes, számunkra egyik sem volt elérhető. A *Siegert* (9) eljáráshoz 30 000-es fordulatszámú ultracentrifuga szükséges. A *Müller—Brand* (10) által kidolgozott antigen tisztítási módszerhez ultracentrifuga nem szükséges. E módszer lényege az, hogy az allantois folyadékot dializálják, majd hosszabb ideig centrifugálják (2—4 h). Ezen eljárás hátránya, hogy nagyfokú vírusvesztéssel dolgozik (a partikulák kb. háromnegyede elvész), ezért ezt a módszert sem vezethették be.

Influenzavirus koncentrálására jól bevált a vörösvérsejtekre való adszorbeálás, majd eluálás, de ez a mumpszvírusnál nem jöhet számításba, mert a vírus haemolizál (11), és bár az oldat víruskoncentrációja fokozódik, az antigen idegen fehérje szennyeződése — ahelyett, hogy csökkenne — emelkedik.

Az S-antigen előállítása viszonylag egyszerű. Eleinte a *Müller—Brand*-f. technikával dolgoztunk. A mosott membránokat szűrőpapír között szárítottuk és felolvasztottuk, majd membránonként 0,5 ml pH 7-es foszfátpufferes sósvízben szuszpendáltuk és a folyadékot 2—3 órán keresztül 7000-es fordulatszámmal centrifugáltuk. Antigenként a felülúszót használtuk, amely halvány lazacszínű kristálytisztá oldat. Később ezt az eljárást egyszerűsítettük (*Koch*). A mosott membránokat *Waring—Blendor* készülékben 10 percig homogenizáltuk, majd az anyagot aa pufferes sósvízzel összekeverve 3—4-szer fagyasztottuk, felolvasztottuk. Utána a szuszpenziót *Seitz* szűrőn átszűrtük, vagy lecentrifugáltuk és antigenként a szűrletet, ill. a felülúszót használtuk, amely az előbbi antigennél barnább, de ugyancsak tiszta folyadék.

Próbaképpen néhányszor *Casals* (12) módszerével is készítettünk antigent. A feldarabolt membránokat éterral összeráztuk, majd az étert centrifugálással eltávolítva, az üledéket sósvízzel extraháltuk. Mivel jelen körülményeink között ezt a módszert sem találtuk nagyobb mennyiségek készítésére alkalmasnak, a gyakorlatban nem is használtuk.

Az oldatokat 0,01 százalékos mertioláttal konzerválva mélyhűtőben tároltuk. Irodalmi adatok szerint az S-antigen 0—4 C fokon sem veszít hatósságából. A betitrlás rekonvalescens savóval, majd állati hiperimmun savóval történt. Az I-es antigen árnyalattal (hibahatáron csaknem belül) érzékenyebbnek mutatkozott. Haemagglutinációs képességgel és anti-komplement-er-hatással egyik antigen sem rendelkezett s emiatt a komplement-kötések során töményen kerültek alkalmazásra. Mélyhűtés közben a II-es antigenben kicsapódás keletkezett, amelyet használat előtt centrifugálással kellett eltávolítani. A centrifugálás említésre méltó titercsökkenést nem okozott.

Bár az I-es antigen tisztábbnak és érzékenyebbnek mutatkozott, vizsgálataink zömét az egyszerűbb eljárással készített antigennel végeztük, főleg azért, mert ez az eljárás nagyobb mennyiségek készítésére alkalmasabb.

Mind az S-, mind a V-antigennel állatokban (csirké, nyúl, tengeri malac) hiperimmun savókat termeltünk, amelyek a homolog antigennel 128—

500-as hígításban komplementkötést adtak. A V-immunserumok alacsonyabb titerben keresztreakciót adtak az S-antigennel, jelülül annak, hogy az immunizálásra használt allantois folyadék S-antigént is tartalmazott, mindkét antigenben tojásfehérje is volt.

Eredmények: Vizsgálatainkat kórházi fertőző osztályok beteganyagán végeztük, továbbá járványtani szempontból szűrtünk át egészséges és fertőzött kollektívákat.

Egy járvány sújtotta egység 479 tagjának serumát vizsgáltuk meg V- és S-antitestekre. Eredményeinket az I. táblázat mutatja.

E táblázatból látható, hogy a létszám kb. 20 százaléka nem sokkal a vérvétel előtt esett át — nagy többségben latens — fertőzésen. Az egység több mint felénél a két antitest tükör egyenlő, vagy majdnem egyenlő, de ezek-

I. TÁBLÁZAT

S. és V. ANTITEST TITEREK KÖZÖTTI KÜLÖNBÉG

V Titer 16-szor vagy többször nagyobb mint S titer	14 fő	} $V > S$ 95 fő
V Titer 4—8-szor nagyobb mint S titer	81 fő	
2 Titer egyenlően alacsony	207 fő	} $V = S$ 268 fő
2 Titer egyenlően magas	61 fő	
S Titer 4—8-szor nagyobb mint V titer	96 fő	} $V < S$ 116 fő
S Titer 16-szor vagy többször nagyobb mint S titer	18 fő	
Összesen:	479 fő	479 fő

nek kb. 80 százaléka alacsony értékeket mutat. Az egységnek csak 11—12 százaléka az, ahol a két titer magasabb értékkel egyezik. A serumok kb. 20 százalékanak a V-titere magasabb, mint az S-titer, de ezek nagy részénél csak anamnesztikus (kisebb, mint 20) titerek vannak. Ebből arra következtettünk, hogy kevés azoknak a száma, akik a közelmúltban, de két-három hónapnál régebben estek át manifeszt, vagy latens fertőzésen. Ezek után valószínűnek tartottuk, hogy az egységnél még hosszabb ideig további megbetegedések várhatók. A járvány lefutása később igazolta is nézetünket.

A járvány lezajlása után 4—5 hónap múlva ismét átszűrtük a személyi állomány egy részét.

Ekkorra az S-antitestek csaknem teljesen eltűntek. Az egyének 13,4 százalékanál kaptunk 8-as hígításban pozitív kötést és 1,5 százalékanál volt a titer 16-os. A V-antitestek még nagyrészt megmaradtak. A savók 35 százaléka 8-as, 43 százaléka ennél magasabb hígításban adott pozitív komplementkötési próbát. Néhány esetben a titerek még egészen magasak voltak; 19 64-es és 2 128-as titerű reakciót kaptunk. A nagyon kevés negatív eredmény arra enged következtetni, hogy a kollektíva minden tagja kisebb vagy nagyobb antigen-ingerben részesült. A V- és S-titerek összehasonlításánál szembevetünk, hogy az egyének 66 százalékanál a V-antitest tükör szignifikánsan nagyobb, mint az S-antitest tükör. Csupán a kollektíva 1 százalékanál

II. TÁBLÁZAT

S titerek magassága	0	2	4	8	16	32	64	128
Savók száma	97	129	111	53	6	0	0	0
V titerek magassága	0	2	4	8	16	32	64	128
Savók száma	9	23	62	134	95	52	19	2

TITEREK ÖSSZEFÜGGÉSE

V Titer 16-szor vagy többször nagyobb mint S titer	38 fő	} V > S 261 fő
V Titer 4—8-szor nagyobb mint S titer	223 fő	
2 Titer egyenlően alacsony	131 fő	} V = S 131 fő
2 Titer egyenlően magas	0	
S Titer 4—8-szor nagyobb mint V titer	4 fő	} V < S 4 fő
S Titer 16-szor vagy többször nagyobb mint S titer	0	
Összesen:	396 fő	396 fő

magasabbak az S-értékek a V-értékeknél. Ezen eredmények a járványtani adatok ismerete nélkül is a közelmúltban lezajlott járványra hívnák fel a figyelmet.

Egy járványmentes egységnél, ahol 300 vizsgálatot végeztünk, S-antigen-nel mindössze 20 esetben kaptunk 8-nál magasabb titert és 32 volt azon serumok száma, amelyek a V-antigenre 8 -as, vagy ennél magasabb hígítás-ban pozitívan reagáltak. Itt említjük meg, hogy V-antigennel jóval magasabb százalékban kaptak pozitív eredményeket amerikai újoncknál *Liao* és *Beneson* (13), aminek a magyarázata a jobb antigenen kívül az ottani parotitis-járványtani viszonyokban keresendő.

Érdekesebb képet ad a betegek savóinak a vizsgálata, amelyeket a klinikailag manifeszt megbetegedések különböző időszakaiban végeztünk.

A III. táblázatból könnyen kivehető, hogy magas V-antitest titer csak a 11—12. nap után levett véreknél van, ami teljesen megfelel az irodalmi adatoknak. Az S-titerek, mivel a vérek kevés kivétellel a betegség alatt lettek levéve, általában sokkal magasabbak, mint a V-titerek, már a 4—5. napon vett vérek erősen pozitív reakciókat adnak. Összehasonlítás végett ábráztuk a haemagglutinációs gátlási értékeket is. A betegség első 10 nap-jából származó vérminták kétharmada mutat magasabb S-amboceptortitert, mint haemagglutinációs gátlási titert. Irodalmi adatok szerint (*Vivell, Marquart*) (14) az S-amboceptor előbb keletkezik, mint a haemagglutinációt gátló antitest. Egy, a betegség 35. napján levett vérben az S-titer már csökkenést

III. TÁBLÁZAT

Sorszám	Jelzés	Betegség és vérévétel közti idő	H Titer	S Titer	V Titer
			klinikailag típusos megbetegedés		
1	SF	10 nap	32	16	4
2	CSI	10	64	128	8
3	SI	6	16	64	8
4	FM	5-7	64	82	8
5	SZM	5-6	32	32	4
6	SL	4-5	32	32	2
7	PM	4-5	16	8	8
8	KL	3-4	4	32	16
9	NS	15	128	250	64
10	CSJ	14	32	32	32
11	BF	7	4	128	4
12	PJ	10	16	64	8
13	SJ	8	32	8	0
14	TJ	6	4	32	2
15	MG	8-9	32	64	8
16	OI	21	250	250	250
17	VÉ	7	0	64	4
18	DGY	13	128	250	64
19	SZGY	15	128	250	64
20	MP	16	64	128	128
21	BJ	11	128	64	32
22	SG	8	32	128	8
23	SZS	9	64	128	16
24	KK	5	16	128	4
25	MGY	11	32	128	4
26	RL	9	32	128	4
27	GYF	17	128	250	64
28	SZF	11	16	64	32
29	SZL	8	32	8	4
29/a	SZL ism.	17	250	64	32
30	KS	11	128	64	8
30/a	KS ism.	19	64	64	32
31	KB	5	16	64	8
31/a	KB ism.	35	32	8	64
ATIPUSOS MEGBETEGEDÉS					
32	KV	14	128	128	64
33	JJ	10	8	64	8
34	HM	17	128	64	32
34/a	HM ism.	20	128	64	64
MUMPSRA GYANUS MEGBETEGEDÉS					
35	GYG		4	0	4
36	PJ	12	8	4	4
36/a	PJ ism.	2	8	4	16
37	MGY	11	4	8	4
37/a	MGY ism.	19	4	4	4

mutat. Az egyforma időben levett vérek titeri nem mindig azonosak. Ennek okát az infekció masszivitásának mértékében, valamint az egyéni reakcióképességek közti különbségekben kereshetjük.

Az atipusos mumps-megbetegedések esetén a szerológiai próbák a típusos megbetegedésekhez hasonlóan magas hígításban bekövetkező pozitív értékeket adnak. Az ismételt próbáknál a titer-emelkedés jól követhető. Az utolsó három serum ismeretlen aetiológiájú betegségekben szenvedőktől származott, amelyeknél felmerült az atipusos mumps-fertőzés gyanúja. A későbbiek során e gyanú nem igazolódott és ehhez — főleg a betegség alatt — döntő módon járult hozzá a szerológiai vizsgálatok negatív eredménye.

Discussio: A szakirodalomban több eljárás ismeretes a mumps-vírus V-antigenjének tisztítására. Számunkra egyik sem volt hozzáférhető, és emiatt a 128—256-os haemagglutinációs titerű virustenyészetet használtuk. Ez az antigen aránylag kevés virust tartalmazott és tojásfehérje volt benne. *Liao* és *Beneson* 1280 haemagglutinációs titerű antigennel dolgoztak és emiatt kaptak nagyobb százalékban pozitív eredményeket. Fel lehet tételezni, hogy a mi V-titereink esetleg alacsonyabbak, esetleg azt is, hogy néhány esetben az antigen tojásfehérjetartalma miatt alacsonyabb hígításban nonspecifikus kötéseket kaptunk, de — különösen beteganyagunkon látszik — koncentrált V-antigen hiányában az allantois folyadék eredményesen felhasználható a komplementkötési próbákban.

Az S-antigen előállítása nem nehéz feladat, az antigen könnyen tárolható, tömeges vizsgálat céljaira a *Koch* által módosított eljárás látszik alkalmasabbnak.

A két antigennel párhuzamosan végzett komplementkötési eredmények rámutattak arra, hogy a járványos kollektívában számosan estek át a fertőzésen klinikai tünetek nélkül és e latens fertőzésekkel szintén magas immun-titer érhető el. A személy szerinti értékelésnél kiderült, hogy kik estek át régebben, vagy újabban a fertőzésen. A járvány közepe táján végrehajtott szűréskor még több volt a friss fertőzés, mint a régebbi (több magas S-titer volt, mint V-titer), a járvány után pár hónap múlva magas S-titer már nem volt, a V-antigennel elvégzett reakciók viszont az állomány 80 százalékánál pozitívak voltak.

A betegek savóival végzett reakcióknál is megfelelnek eredményeink az irodalmi adatoknak. Friss betegek seruma az S-, régebbi betegek seruma a V-antigenre reagált magasabb hígításban. A haemagglutinációs gátlási titer néhány esetben előbb mutatott emelkedést, mint az S-antitest titer. Atipusos mumps-megbetegedések esetén is specifikus reakciókat kaptunk.

Összefoglalás:

V- és S-mumps antigenekkel párhuzamosan végeztünk komplementkötési próbákat egészséges egyéneknél, járványos környezetben, járvány alatt és után, valamint betegeknél. V-antigenként fertőzött allantois folyadékot alkalmaztunk, S-antigent tisztán állítottunk elő *Koch* módszerével. Egészségeseknél S antitest titer nem kaptunk és csak anamnesztikus V-titerek (20 alatt) voltak. Járványos környezetben számos latens fertőzést sikerült a komplementkötési próbákkal igazolni. Betegeknél előbb az S-antigennel végzett komplementkötés vált pozitívvá, a savók a V-antigennel csak a betegség 11—12. napjától kezdve adtak magasabb titerben kötést. A szerológiai próbák értékes segítséget jelentenek az atipusos megbetegedések diagnózisában.

1. Enders, J. F.—Cohen, W.: Proc. Soc. exp. Biol. 50, 180 (1942). — 2. Rocchi, F.: Arch. Virusforsch. 2, 499 (1942). — 3. Habel K.: Publ. Health. Rep. 60, 201 (1945). — 4. Levens J. H.—Enders J. F.: Science, 102, 117 (1945). — 5. Henle G.—Henle W.—Harris S.: Proc. Soc. exp. Biol. 64, 290 (1947). — 6. Ivanovics: Emberi betegségek okozó vírusok és rickettsiák. (Akadémiai Kiadó, Budapest) 1953. — 7. Seltzer G.—Van den Ende M.: J. Hyg. 54, 1 (1956). — 8. Lippelt H.—Müller F.: Arch. Virusforsch. 6, 76 (1955). — 9. Siegert (id. Müller—Brand). — 10. Müller F.—Brand G.: Arch. Virusforsch. 5, 288 (1954). — 11. Morgan H. R.—Enders J. F.—Wagley P. F.: Exp. Med. 88, 503 (1948). — 12. Casals H. F.—Oltsky P. K.: Proc. Soc. exp. Biol. 75, 315 (1950). — 13. Liao S. J.—Beneson A. S.: Am. J. Hyg. 59, 273 (1954). — 14. Vivell O.—Marquart R.: Deutsch. med. Wschr. 79, 159 (1954).

Д-р Иштван Никодемус:

ОПЫТ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДВУМЯ (S И V)
АНТИГЕНАМИ СВИНКИ

S и V -антигенами параллельно проводились реакции связывания комплемента у здоровых лиц, в эпидемическом окружении, во время и после эпидемии, а также у больных. V-антигеном применялась инфицированная аллантоидная жидкость, S-антиген изготовили чисто, по методу Коха (Koch). У здоровых не получили S-антитело-титр, только анамнестические V-титры (под 20). В эпидемическом окружении многочисленную латентную инфекцию могли подтвердить реакциями связывания комплемента. У больных сначала связывание комплемента с S-антигеном стало положительным, сыворотки с V-антигеном только с 11—12. дня болезни дали связывание в высшем титре. Серологические пробы оказывают ценную помощь в диагностике атипичных заболеваний.

Dr. I. Nikodémusz:

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER ZWEI PAROTITIS-ANTIGENE (S UND V)

Paralleluntersuchungen mit den Parotitis-Antigenen S und V wurden bei gesunden Versuchspersonen, bei anscheinend Gesunden in gefährdetem Milieu, vor und während einer Epidemie, sowie bei manifest Erkrankten durchgeführt. Als V-Antigen diente die infizierte Allantois-Flüssigkeit, während das S-Antigen steril, durch die Kochsche Methode hergestellt wurde. Bei Gesunden konnte der S-Antikörper überhaupt nicht festgestellt werden, V-Antikörper kamen nur mit niedrigem Titer (unter 1:20) vor. Im gefährdeten Milieu konnten durch die Komplementbindungsreaktion viele latent verlaufende Infekte aufgedeckt werden. Bei manifesten Erkrankungen war zuerst die mit dem S-Antigen ausgeführte Komplementbindung positiv, während mit dem S-Antigen höhere Titer nur vom 11.—12. Tage ab festgestellt werden konnten. In der Aufdeckung atypisch verlaufender Erkrankungen leisten demnach die serologischen Reaktionen eine wertvolle Hilfe.

**Parotitis antitestek viselkedése csapadékos oldóanyaggal
történt immunizálás esetén**

Írta: Nikodémusz István dr.

Előző közleményben beszámoltunk a parotitis-vírus kétféle (S és V) antijéről, valamint a velük végzett szerológiai vizsgálatokról (1). A vízben oldódó (S) antigen csak az utóbbi időben vált ismertté (2). Előállítására több módszert írtak le (3, 4). Vizsgálataink során irodalmi adatokkal egyértelműen arra a megállapításra jutottunk, hogy az S-antigennel végzett komplementkötési próbák a betegség korábbi szakában válnak pozitívvá, mint a haemag-