

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | KASUISTIK

men det røde Y forblev rødt. Ved sandt-positive celler skiftede både X- og Y-signalerne farve. Alle kandidatceller blev derfor undersøgt i mikroskopet efter begge hybridiseringer. De falsk-positive røde signalers natur kendes ikke. De kan måske skyldes uspecifik binding af probe eller være små partikler fra de anvendte opløsninger.

I Tabel 1 resumeres resultaterne. Antallet af føtale celler i hver af de Carnoy-fikserede prøver (44-48) ligger på 3-12.

Det fremgår af Tabel 1, at der kun fandtes tre føtale celler i 573 ml maternelt blod efter berigelse med henblik på at søge efter erythroblaster. Til gengæld fandtes der 28 føtale celler i 15 ml blod efter hypotonering og Carnoy-fiksering.

### Diskussion

Gennem de seneste få år har vi arbejdet på at identificere og isolere fosterceller fra maternelt blod. Vi har gjort mange forsøg på at udvikle både nye markører og berigelsesmetoder.

Vi har i forskellige samarbejdsrelationer forsøgt at udvikle peptidnukleinsyre (PNA)-prober mod embryonalt hæmoglobin-ribonukleinsyre (RNA) og undersøgt en række forskellige berigelsesmetoder for erythroblaster og trofoblaster. Den bedste erythroblastberigelsesmetode var CD71-positiv selektion på fuldblod. Dette blev vist på prøver taget efter (invasiv) CVS (post-CVS), hvor der altså har været tale om føtomaternel blødning inden blodprøvetagningen [8].

Andre har fundet større antal erythroblaster end vi på præ-CVS-prøver. Der har været publiceret tal fra en fostercelle pr.  $10^4$  til en pr.  $10^9$  maternelle celler. Vi antager nu, at der ved fund af relativt høje antal føtale celler har været tale om falsk-positive celler, som har været identificeret ved føtale hæmoglobinantistoffer eller ved en enkelt X-Y-hybridisering. Føtal hæmoglobinantistof er ikke en specifik markør.

Vi har fundet, at det er nødvendigt at anvende to uafhæn-

gige markører for føtal oprindelse af celler, f.eks. to sekventielle hybridiseringer med X- og Y-kromosom-specifikke prober med omvendte farver eller fosterspecifikke embryonale hæmoglobinmarkører som epsilon- og zeta-hæmoglobinantistoffer kombineret med X-Y-kromosom-FISH.

Korrespondance: *John Phillip*, Berlingsbakke 11, DK-2920 Charlottenlund. E-mail: joph@gentofte.dk

Antaget: 8. november 2004

Interessekonflikter: Ingen angivet

Arbejdet er støttet delvist af følgende fonde: Alfred Benzons Fond, Brdr. Hartmanns Fond, Kromosomforskningsfonden, Steenbecks Fond, Det Sundhedsvidenskabelige Forskningsråd, Ivan Nielsens Fond, Novo Nordisk Fond, Lundbecks Fond, Carl og Ellen Hertzs Fond, Erhvervsfremme Styrelsen og Frode Nyegaards Fond.

Vi takker MetaSystems og Applied Imaging for at stille de automatiske skanning-instrumenter til vores rådighed.

This publication was first reported in the *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 2005;53:331-6.

### Litteratur

1. Tabor A, Philip J, Madsen M et al. Randomized controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986;1:1287-93.
2. Smidt-Jensen S, Permin M, Philip J et al. Randomised comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. *Lancet* 1992;340:1237-44.
3. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ et al. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:705-8.
4. Oudejans CBM, Tjoa ML, Westerman BA et al. Circulating trophoblast in maternal blood. *Prenatal Diagnosis* 2003;23:111-6.
5. Hamada H, Arinami T, Kubo T et al. Fetal nucleated cells in maternal peripheral blood: Frequency and relationship to gestational age. *Hum Genet* 1993;91:427-32.
6. Krabchi K, Gros-Louis F, Yan J et al. Quantification of all fetal nucleated cells in maternal blood between the 18th and 22nd weeks of pregnancy using molecular cytogenetic techniques. *Clin Genet* 2001;60:145-50.
7. Christensen B, Kølvrå S, Lykke-Hansen L et al. Studies on the isolation and identification of fetal nucleated red blood cells in the circulation of pregnant women before and after chorion villus sampling. *Fetal Diagn Ther* 2003;18:376-84.
8. Christensen B, Philip J, Kølvrå S et al. Fetal cells in maternal blood: a comparison of methods for cell isolation and identification. *Fetal Diagn Ther* 2005;20:106-12.

## Påvisning af kokoppevirus (cowpoxvirus) i Danmark

Seniorforsker Laurids Siig Christensen, speciallæge Eivind B. Nielsen, laborant Jane Nowicki, professor Johan Andersen & virolog Karin de Stricker

Danmarks Fødevareforskning, Afdeling for Virologi, Lindholm, Speciallægerne i hudsygdomme, Esbjerg, og Syddansk Universitetshospital, Esbjerg, Patologisk Afdeling

Kokoppevirus (*cowpoxvirus*) er et med variolavirus tæt beslægtet virus, hvis egentlige værtsdyr er gnavere såsom mus og rot-

ter. Infektionen kan overføres til en lang række dyrearter inklusive mennesket, og symptomerne er oftest lokaliseret til indgangsporte igennem huden med et mildt forløb og ringe mortalitet [1]. Der er rapporteret om kokoppevirus i Sverige [2] og Norge [3], men den er ikke tidligere blevet påvist i Danmark. For en oversigt se [4].

### Sygehistorie

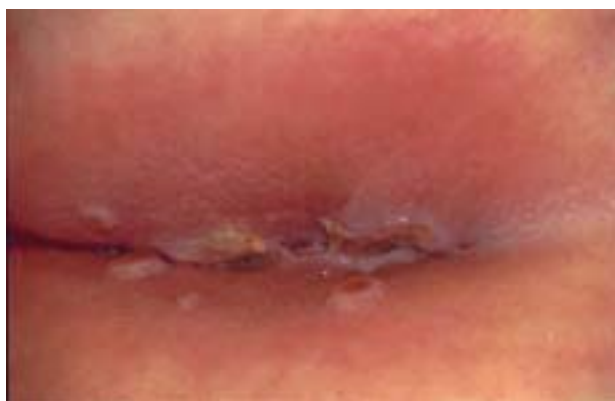
En 13-årig dreng blev henvist pga. mistanke om et perianalt herpesvirusulcus. Patienten havde i 2-3 uger haft et knoppet udslæt og forudgående en længere periode med kløe peri-

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | KASUISTIK

analt. Angiveligt havde patienten tabt sig 4 kg i de seneste tre uger. Objektivt sås der udtalt sårddannelse perianalt (**Figur 1**). Medialt på højre nateshalvdel fandtes tre plateauagtige, eleverede elementer, der målte op til 10 mm i diameter. To lignende elementer sås på henholdsvis venstre nateshalvdel og proksimalt/medialt på venstre femur. Dorsalt på penis sås et godt 10 mm stort element med nogen rødme omkring. Der observeredes ingen udtalt adenitis inguinalis. Ved lysmikroskopi på en stansebiopsi fra et element på venstre femur sås en uregelmæssig akantonisk epidermis med vakuolisering af superficielle epitelceller og i et område infarcering. I den papillære og subpapillære del af corium – stedvis nående den dybere del – fandtes en massiv inflammatorisk reaktion generelt domineret af T-lymfocytter, overvejende T-suppressorceller og histiocytære celler. Mod epitelet sås et stigende antal neutrofile granulocytter og diapedese af cellerne op i epitelet. Der sås ingen karproliferation, men udtalt papillært ødem og eksocytose af erythrocytter, hvilket også observeredes i epitelet stedvis imiterende inklusionslegemer.

Patienten var ca. fem uger før henvisningen vendt hjem fra et tougers ferieophold i Italien, hvor der efter badning over dele af kroppen blev observeret et nældefeberagtigt udslæt, som forsvandt efter en time. Patienten havde tæt kontakt til katte og havde således fået to kattekillinger efter hjemkomsten fra ferien i Italien.

På mistanke om Milkers nodule, orf eller molluscum contagiosum blev der udtaget stansebiopsi fra elementet på venstre femur til virologisk undersøgelse. Elektronmikroskopi (EM) på biopsien viste de for orthopoxvirus typiske murstensformede ca. 225 nm × 300 nm store partikler med et irregulært mønster af tubuli på envelopeoverfladen. Parapoxvirus adskiller sig morfologisk fra andre koppevirus ved at have en mere oval form og en regelmæssig, spindelagtig organisering af tubuli på envelopeoverfladen, og parapoxvirus kunne dermed udelukkes. Biopsimaterialet blev podet på primære kalvnyrecellekulturer, og cytopatogeneffekt blev observeret efter fem dage. I prøver fra disse kulturer kunne koppevirus ligeledes påvises ved EM.



Figur 1. Sårddannelse i crena.

På biopsimaterialet blev der udført en pan-orthopoxvirus polymerasekædereaktion (PCR)-analyse ved anvendelse af primerne 5'-ACATGCATGCCAGGAC-3' og 5'-ACCATTA-CAAACATTATCC-3' under betingelser, der i alt væsentligt var som angivet af Loparev *et al* [5], hvilket gav et produkt på ca. 1.300 basepar. PCR-produktet blev sekventeret, og den 1.258 basepar kodende region for genet *cytokin response modifier B* (crmB) blev sammenlignet med repræsentanter for familierne inden for genus *Orthopoxvirus* jf. Loparev *et al* [5]. Sammenligningen identificerede entydigt det pågældende virus som et kokoppevirus, og det betegnedes CoPV/DEN/98. Den fylogenetiske placering er angivet i [4].

Tre uger efter henvisningen resterede et enkelt element, men væskedannelsen var ophørt, og de perianale sår var lægt.

### Diskussion

Påvisningen af kokoppevirus fra det afficerede hudområde må betragtes som ætiologisk konklusiv på trods af, at bakteriologiske og virologiske laboratorieundersøgelser til udelukkelse af differentialdiagnoser ikke blev foretaget. Det må antages, at affektionens lokalitet skyldes autoinokulation via hænderne, men symptomer på hænderne eller andre dele af kroppen blev ikke observeret.

Beskrivelsen af et generaliseret udslæt efter badning under et ferieophold i Italien formodes at være uden sammenhæng med kokoppeinfektionen, hvorimod den tætte kontakt med katte kan være en forklaring. Der foreligger imidlertid ingen informationer om symptomer på kattene, og nogen konklusion om smitekilden kan derfor ikke nås.

Korrespondance: Laurids Siig Christensen, Danmarks Fødevarerforskning, Afdeling for Virologi, Lindholm, DK-4771 Kalvehave. E-mail: lsi@dfvf.dk

Antaget: 25. oktober 2004  
Interessekonflikter: Ingen angivet

Taksigelser: Laboratoriefuldægtig Preben Normann og laboratoriefuldægtig Anita Bagge Hemmingsen takkes for excellent teknisk bistand i laboratoriet. Organisationen Dansk Kvæg takkes for økonomisk støtte til projektet.

Den tilvejebragte sekvens af det påviste isolat af kokoppevirus, CoPV/DEN/98, er deponeret i GenBank under accessionnummer AY623479.

### Litteratur

1. Baxby D, Bennett M, Getty B. Human cowpox 1969-93: a review based on 54 cases. *Br J Dermatol* 1994;131:598-607.
2. Cronqvist J, Ekdal K, Kjartansdóttir A *et al*. Cowpox – en kattsjuka hos människor. *Läkartidningen* 1991;88:2605-6.
3. Tryland M, Sandvik T, Hansen H *et al*. Characteristics of four cowpoxvirus isolates from Norway and Sweden. *APMIS* 1998;106:623-35.
4. Christensen LS, Hornsleth AK. Kokoppevirus: en relevant ætologi i Danmark? *Ugeskr Læger* 2005;167:1623-4.
5. Loparev VL, Massung RF, Esposito JJ *et al*. Detection and differentiation of old world orthopoxviruses: restriction fragment length polymorphism of the crmB gene. *J Clin Microbiol* 2001;39:94-100.