

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA
***CYTOMEGALOVIRUS* (CMV) ANTİJENİ VE CMV DNA'NIN**
ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Dinçer KOÇ

Danışman
Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2018
KAYSERİ

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA
CYTOMEGALOVIRUS (CMV) ANTİJENİ VE CMV DNA'NIN
ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Dinçer KOÇ

Danışman
Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TYL-2015-6001 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Ağustos 2018
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Dinçer KOÇ

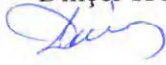


YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

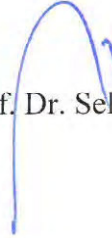
“Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Cytomegalovirus (CMV) Antijeni ve CMV DNA’nın Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

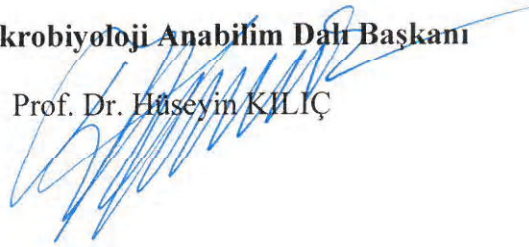
Diñer KOÇ

**Danışman**

Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ



Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU danışmanlığında **Dinçer KOÇ** tarafından hazırlanan “**Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Cytomegalovirus (CMV) Antijeni ve CMV DNA’nın Araştırılması**” bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...29/08/2018

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

(Erciyes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Doç. Dr. Mustafa Altay ATALAY

(Erciyes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Filiz ORAK

(Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve her konuda bana destek olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU'na, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ'a ve eğitimimde emeği geçen Sayın Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

TYL-2015-6001 no'lu bu tez projesini maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca her türlü yardım ve desteğini benden esirgemeyen değerli dostlarıma, Dr. Ömür Mustafa PARKAN'a, Dr. Demet TİMUR'a ve tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim. Çalışma süresince beni hiç yalnız bırakmayan ve her daim birbirimize destek olduğumuz değerli arkadaşım Gülşah DUMLU'ya ve beraberinde tüm Bakteriyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Her zaman desteklerini ve sevgilerini hissettiğim canım aileme teşekkür ederim.

**KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA
CYTOMEGALOVIRUS (CMV) ANTİJENİ VE CMV DNA'NIN
ARAŞTIRILMASI**

Diğer KOÇ

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi Ağustos 2018

Danışman: Prof.Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

ÖZET

Amaç: CMV immün sistemi normal kişilerde genellikle asemptomatik hastalık oluşturmasına rağmen, transplant alıcıları ve HIV/AIDS hastaları gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi mortalite ve morbidite nedeni olmaktadır. Bu çalışmada kemik iliği transplantasyonu (KİT) yapılan hastalardan elde edilen kan örneklerinde elde edilen CMV DNA sonuçları ile CMV pp65 antijen test sonuçlarının karşılaştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metod: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi M. Kemal Dedeman Hematoloji-Onkoloji Hastanesi, Hematoloji bölümü poliklinik ve servislerinde takip edilen KİT yapılan hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan 156 hastaya ait örnek pp65 antijenemi testi indirekt immunofloresan yöntemi (CINA kit, Argene-Biosoft, Fransa) ile CMV DNA ise real time PCR (RT-PCR) (Artus® CMV QS-RGQ Kit, QIAGEN, Almanya) yöntemi ile araştırıldı. Antijenemi testinde ≥ 1 hücre/200.000 pozitifliğine karşılık gelen viral yük düzeyi ise ROC analizi ile belirlendi.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 174 örneğin; 121 (%69.5)'inde antijenemi ve CMV DNA negatif, 33 (%19) örnekte her iki test sonucu pozitif bulundu. pp65 antijenemi testi negatif 20 hastaya ait örnekte (%11.5) CMV-DNA pozitif saptandı. Her iki test ile pozitif saptanan örnekler değerlendirildiğinde, plazma CMV-DNA düzeyi ile pp65 pozitif hücre sayısı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($r=0.660$). ROC analizi ile ≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre antijenemi pozitifliğine karşılık gelen CMV-DNA düzeyi 152 IU/ml olarak tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak antijenemi ve CMV DNA test sonuçlarının uyumlu olduğu ve bir antijen pozitifliğine karşılık gelen eşik CMV DNA düzeyinin 152 IU/ml olduğu bulundu. Ancak her merkezin kendi koşullarına uygun eşik değerleri belirlemesi gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Cytomegalovirus, CMV antijenemi, CMV DNA, kemik iliği transplantasyonu

**INVESTIGATION OF CYTOMEGALOVIRUS (CMV) ANTIGEN AND CMV
DNA IN BONE MARROW TRANSPLANT RECIPIENTS**

Dincer KOÇ

**Erciyes University, Institute of Health Sciences
Department of Microbiology, Master of Science Thesis**

Agust 2015

Supervisor: Prof.Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU

ABSTRACT

Aim: Although CMV usually causes asymptomatic disease in immunocompetent person, it causes serious mortality and morbidity in immunocompromised patients such as transplant recipients and HIV/AIDS patients. In this study, we aimed to compare CMV DNA RT-PCR results and CMV pp65 antigen test results in blood samples obtained from bone marrow transplant recipients.

Materials and Methods: The patients who underwent bone marrow transplantation and being followed at hematology polyclinics and clinics of Erciyes University Medical Faculty, M. Kemal Dedeman Hematology-Oncology Hospital were included in the study. CMV DNA was investigated by real-time PCR (RT-PCR) (Artus CMV QS-RGQ Kit, QIAGEN, Germany) and CMV antigen was investigated by indirect immunofluorescence assay (CINA kit, Argene Biosoft, France) in blood samples obtained from 156 patients. The viral load level corresponding to ≥ 1 cell / 200.000 positivity in the antigenemia test was determined by ROC analysis.

Results: Totally 174 samples were included in the study; 121 (69.5%) were negative for indigenous antigen and CMV DNA, and 33 (19%) were positive for both tests. CMV-DNA was found positive in 20 patients that were found antigen negative (11.5%). When positive samples were evaluated with both tests, the correlation between plasma CMV-DNA level and number of pp65 positive cells was statistically significant ($r = 0.660$). ROC analysis revealed a CMV-DNA level of 152 IU / ml, corresponding to a positive of ≥ 1 positive cells / 200,000 cell antigens.

Conclusion: As a result, it was found that antigenemia and CMV DNA test results were compatible and that the threshold CMV DNA level, which corresponds to one antigen positivity, was 152 IU/ml. However, it was concluded that each center should determine CMV DNA threshold values appropriate to its conditions.

Key words: Cytomegalovirus, CMV antigenemia, CMV DNA, bone marrow transplantation

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY:	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	x
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Tarihçe	3
2.2.Sınıflandırma	3
2.3.Virüsün Genel Özellikleri	3
2.4.Replikasyonu	5
2.5.Fiziksel ve kimyasal özellikleri	6
2.6.Epidemiyoloji	7
2.7.Patogenez ve İmmünite.....	8
2.8.Hastalık ve Klinik Bulgular.....	9
2.8.1.Normal konaklarda CMV enfeksiyonları	10
2.8.2.İmmün yetmezliği olan konaklarda ve solid organ alıcılarında CMV enfeksiyonları.....	10
2.8.3.Konjenital CMV enfeksiyonları.....	11
2.9.CMV'nin Laboratuvar Tanısı.....	12

2.9.1. Direkt İnceleme	12
2.9.1.1. Histopatolojik İnceleme.....	12
2.9.1.2. Antijenemi (pp65) testi.....	13
2.9.1.3. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri	14
2.9.1.4. Direkt Saptama Yöntemleri	15
2.9.2. Virus izolasyonu.....	16
2.9.2.1. Hücre Kültürleri	16
2.9.2.2. Konvansiyonel hücre kültürleri.....	16
2.9.2.3. Shell Vial Yöntemi ile Hızlı Çoğaltma	16
2.9.3. Serolojik Testler	18
2.9.3.1.ELISA.....	18
2.9.3.2.IFA	18
2.9.3.3.Pasif Lateks Aglutinasyon Testi	19
2.9.3.4.Anti CMV IgM Antikor Ölçümleri	19
2.9.3.5. IgG Avidite Testi.....	20
2.10.TEDAVİ.....	21
2.10.1.Gansiklovir.....	21
2.10.2.Foskarnet (fosfonoformik asit).....	22
2.10.4. Valgansiklovir	23
2.10.5.Maribavir.....	23
2.10.6.Valasiklovir	23
2.10.7.Fomivirsen	23
2.11.KORUNMA	23
3.GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1.ÖRNEK ve HASTALAR.....	25
3.2.CMV Antijenemi Testi	25

3.2.1. Lökositlerin elde edilmesi ve preparat hazırlanması	26
3.2.2. Fiksasyon ve permeabilizasyon.....	27
3.2.3. Boyama ve Değerlendirme	27
3.3. CMV DNA PCR TESTİ	27
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	29
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33
6. KAYNAKLAR	37
EKLER	
ÖZ GEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

AIDS	: Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
AKİT	: Allojenik Kemik İliği Transplantasyonu
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
⁰ C	: Santigrad derece
CDV	: Sidofovir
CMV	: Cytomegalovirus
CPE	: Sitopatik etki
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
ELISA	: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
FOS	: Foskarnet
gB	: Glikoprotein B
GCV	: Gansiklovir
gH	: Glikoprotein H
gL	: Glikoprotein L
gM	: Glikoprotein M
gN	: Glikoprotein N
GVHD	: Graft versus host disease
HHV-5	: İnsan Herpesvirüs 5
HHV-6	: İnsan Herpesvirüs 6
HHV-7	: İnsan Herpesvirüs 7

HSV	: Herpes simplex virüs
IgG	: İmmüoglobülin G
IgM	: İmmüoglobülin M
IFA	: İndirekt floresan antikor
KİT	: Kemik iliği transplantasyonu
MHC	: Majör Histocompatibility Complex
mL	: mililitre
NK	: Doğal öldürücü
ORF	: Open Reading Frame
PBS	: Phosphate buffer saline
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribo nükleik asit
rpm	: Rotation per minute
UL	: Unique long
US	: Unique short
VACV	: Valasiklovir
VGCV	: Valgansiklovir
VZV	: Varicella zoster virüs
μ l	: Mikrolitre

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Örneklerin pp65 Antijenemi ve CMV-DNA Sonuçlarının Dağılımı..... 30



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. CMV'nin morfolojik yapısı.	5
Şekil 2. Shell vial kültür ve İFA boyama sonrası enfekte MRC-5 hücrelerinde CMV erken antijenlerin nükleusta gösterilmesi (Prof.Dr. S.Gökahmetoğlu'nun arşivinden).	17
Şekil 3. pp65 antijenemi ve CMV-DNA pozitif bulunan örneklerin korelasyon eğrisi.	31
Şekil 4. ROC analizi eğrisi.	32



1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan Herpesvirüs 5 (HHV-5) olarak tanımlanan *Cytomegalovirus* (CMV), *Herpesviridae* ailesinin *Betaherpesvirinae* alt sınıfının üyesi olup, lenfotropik bir virüstür. Tüm dünyada yaygındır ve her yaştan insanı enfekte eder. Bulaşmada mevsimsel ve epidemik özellik yoktur. CMV seroprevalansı tüm toplumlarda yaşla birlikte artmakta olup %40-100 arasındadır (1).

CMV prevalansı kalabalık yaşam koşullarına sahip düşük sosyoekonomik gruplarda daha yüksektir. Virüs, enfekte kişilerle direkt yakın kişisel temas sonucunda hızla yayılmaktadır. CMV; tükürük, idrar, anne sütü, gözyaşı, dışkı, vajinal ve servikal sekresyonlar, kan ve semen gibi pek çok vücut sıvısında saptandığı için bulaşmanın çok çeşitli yollarla olabileceği açıktır. Diğer herpesvirüslerin enfeksiyonlarında olduğu gibi primer CMV enfeksiyonu persistan veya latent enfeksiyonla sonuçlanmaktadır (1). Virüsün monositler, nötrofil lökositler, makrofajlar, lenfositler, vasküler endotel hücreleri, böbrek epitelyum hücreleri ve tükürük bezlerinde latent kaldığı düşünülmektedir (2). CMV enfeksiyonları, sağlıklı çocuklar ve erişkinlerde genellikle asemptomatiktir. Bununla birlikte; immün yetmezlikli konaklarda ve transplant alıcılarında ciddi sonuçlar ortaya çıkmaktadır.

Organ transplant alıcılarında CMV enfeksiyonu sıklığı ve şiddeti; transplant tipine, nakledilen organın kaynağına, alıcının immün durumuna ve immünespresif tedavinin süresine bağlıdır. Bu hastalarda belli başlı semptomlar genellikle ateş, halsizlik, letarji, miyalji veya artralji, lökopeni, trombositopeni ve hepatit şeklindedir. Aktif enfeksiyon sıklıkla, transplantasyondan sonra immünespresyonun en üst noktaya ulaştığı 1-4. aylar arasında veya HIV ile enfekte kişiler için CD4+ lenfosit sayısı 50 hücre/ μ l'nin altına düştüğünde gelişir (3). Solid organ ve kemik iliği/ kök hücre transplantasyonlarından

sonra görülen fırsatçı enfeksiyonların birinci sıklıkta nedeni CMV'dir. Transplantasyon sonrasında primer CMV enfeksiyonuna bağlı CMV hastalığı gelişme riskinin %40-60 civarında olduğu görülmüştür. En riskli durum; alıcının seronegatif, vericinin seropozitif olmasıdır. Profilaktik olarak antiviral tedavi yapılmadığında, allojenik kemik iliği transplant alıcılarının ~%50'sinde aktif enfeksiyon, %20-25'inde de CMV hastalığı geliştiği görülmüştür. CMV enfeksiyonu ve hastalığı gelişme riski, otolog transplantasyon sonrasında en düşüktür (2).

Kemik iliği transplantasyonundan sonra CMV enfeksiyonu, özellikle pnömoni ile ilişkili olduğunda, morbidite ve mortalitenin önemli sebeplerinden biridir (3). CMV enfeksiyonlarının tanısında; serolojik testler, kültür yöntemleri, antijenemi testi ve nükleik asit saptama yöntemleri kullanılmaktadır (1). Ancak immün sistemi baskılanmış hastalarda antikor yanıtının eksik ya da bozuk olması, serolojik yöntemlerin geçerliliğini sınırlandırmaktadır. Vireminin ve viral yükün tespitinde en güvenilir yöntemlerin kanda CMV pp65 antijenemi testi ve moleküler yöntemlerle CMV DNA saptanması olduğu bildirilmektedir. Son yıllarda yaygın uygulama alanı bulan gerçek zamanlı "real-time" polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yönteminin, CMV DNA'nın araştırılmasında diğer moleküler yöntemlere kıyasla daha duyarlı olduğu da rapor edilmektedir (4,5,6).

Bu çalışmada, kan örneklerinde RT-PCR yöntemiyle elde edilen CMV DNA sonuçları ile CMV pp65 antijen test sonuçlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

CMV, 19. yüzyılın sonlarına doğru ilk kez Ribbert tarafından bir bebeğin böbreklerinde inklüzyon taşıyan geniş ve protoozona benzeyen hücreler olarak tanımlanmıştır (7,8). ‘*Cytomegalia*’ kelimesi ilk defa 1921’de Goodpasture ve Talbert tarafından kullanılmıştır (8). Virüs izolasyonu, 1956 yılında Smith, Weller ve Rowe tarafından gerçekleştirilmiştir (9). *Cytomegalovirus* adı da Weller tarafından enfekte hücrelerde yaptığı değişikliklerden dolayı kullanılmıştır (10).

CMV’nin önceleri sadece konjenital enfeksiyonlarla ilişkili olduğu düşünülmesine rağmen, ilerleyen yıllarda organ transplantasyonu ve immüsupresif uygulamalardan sonra gelişen ciddi enfeksiyonlara da sebep olduğu belirlenmiştir (11).

2.2.Sınıflandırma

International Committee for Taxonomy of Viruses tarafından insan *Herpesvirüs 5* olarak tanımlanan CMV, *Herpesvirales* takımı, *Herpesviridae* ailesinde bulunur. CMV tükürük bezlerine olan tropizmi, hücre kültüründe geç üremesi gibi özellikleri sebebiyle *Betaherpesvirinae* alt ailesinde yer alır. CMV ile HHV-6 ve HHV-7 arasında homolog sekans bölgeleri saptandığından dolayı bugün HHV-6 ve HHV-7, CMV ile birlikte Betaherpesvirüsler arasında sınıflandırılmaktadır (1).

2.3.Virüsün Genel Özellikleri

CMV, 120-200 nm çapında olup herpesvirüsler içindeki en büyük virüstür. Çift sarmallı, 235 kb büyüklüğünde lineer DNA içeren genomunu, 162 kapsomerden oluşan ikozahedral simetride bir kapsid çevreler. En dış tabakada bulunan zarf; lipid ve glikoproteinden oluşmuştur. Zarf tabakası ile kapsid arasında, büyük oranda fosfoproteinlerden oluşmuş tegument ya da matriks denilen bir yapı bulunmaktadır (1,8). Viral DNA, kısa (unique short:Us) ve uzun (unique long:UL) olarak adlandırılan iki bölgeden oluşmuştur. Us bölgesinde “*Inverted repeat short*“ (IRs) ve “*Terminal*

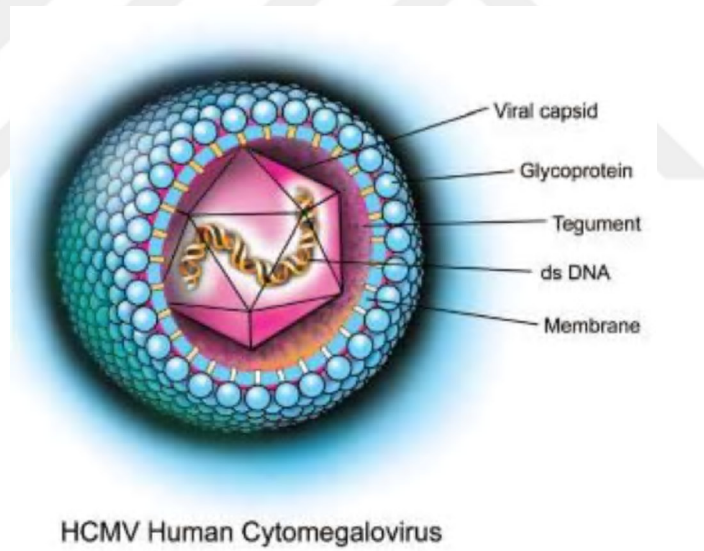
repeat short“ (TRs) bölgeleri bulunur. Bu bölgeler UL bölgesinde de mevcut olup *“Inverted repeat long*“ (IRL) ve *“Terminal repeat long*“ (TRL) olarak adlandırılır.

CMV'nin DNA'sı 208 'open reading frame' (ORF) içerir. Ancak tekrar bölgeleri nedeni ile bazı protein ORF'leri çift kopya olarak bulunmaktadır. Bunun sonucunda 178 özgül proteinin sentez edildiği öngörülmektedir. CMV ORF'lerinin 1/4'ü DNA sentezi ve metabolizmasını yönetmektedir. Geriye kalan kısmı ise CMV'nin yapısı ve olgunlaşmasından sorumludur (12). CMV için korunmuş bölgeleri oluşturan ORF sayısı 46'dır. Genomun G+C içeriği % 54-59 arasında değişmektedir (14,15,16).

Başlıca CMV kapsid proteinleri arasında majör kapsid proteini (pUL86) ve minör kapsid proteini (pUL46) bulunmaktadır. Majör kapsid proteini yapısal olup, minör kapsid proteini ise DNA ile birleşir (12,17). Ayrıca pUL80, kapsidle ilgili bir birleşme (assembly) proteini olup, assemblin adını alır. Bu protein virüsün olgunlaşmasında rol oynar. Viral kapsid ile zarf arasında bulunan matriks (tegüment) kısmında bulunan proteinler, virion proteinlerinin yaklaşık %40'ı kadar olup, birçoğu fosforile olmuş (fosfoprotein= pp) durumdadır (19). Bu proteinlerden *“upper matrix protein”* denen pp71 (ppUL82), diğer bir protein olan pUL69 ile birlikte CMV'nin *“major immediate-early enhancer-promoter”* (MIEP)'inin aktivasyonunda görev alırlar. Hücre kültüründe ppUL32 ve ppUL9, virüsün üremesi için önemlidir (20). Kapsid ve zarfla spesifik ilişki kuran tegüment proteinlerinden UL32 tarafından kodlanmış pp150, kapsid proteinini bağlar. Bu etkileşimin sonucu olarak CMV, elektron mikroskopunda ikozahedral simetrikli düzenli bir yapı olarak görünür (21). UL99 tarafından kodlanan pp28, virion zarfı ile iletişim içindedir ve tegümentin yapısının korunmasına yardımcı olur. Ayrıca, viral replikasyon ve tegüment organizasyonunda rol almayan diğer bazı tegüment proteinleri de vardır (22). Bunlara ilaveten ppUL32 (pp150), ppUL44 (pp52), ppUL28 (pp130) immünojenik olup, virüsün olgunlaşmasına yardımcı olan ve serolojik tanıda yararlanılan diğer tegüment proteinleridir (2, 17, 23).

Önemli tegüment proteinlerinden olan ve bunların % 95'ini oluşturan ppUL83 (pp65), aynı zamanda 'lower matriks proteini' olarak da adlandırılır. Antijenemi testi ile pp65 antijeni araştırılmaktadır. Aynı zamanda pp65 proteini, MHC-I (Majör Histocompatibility Complex) kısıtlı sitotoksik T (Tc) lenfositler için en önemli hedeftir (12,17).

Zarf glikoproteinleri konak hücreye tutunmada, penetrasyonda, bir hücreden diğer hücreye yayılmada ve bağışık yanıtta hedef proteinlerdir. CMV zarf glikoproteinleri, gC1, gC2, gC3 olmak üzere 3 ayrı kompleks yapı içerir. Bunlar viral zarfın üzerindedir. Fakat bunlar glikoprotein adlandırılmasında sırasıyla gB, gH: gL ve gM: gN olarak bilinir ve hepsi replikasyonda önemli rol oynarlar (22,24). UL55 ile kodlu gB, zarfta disülfid bağlayıcı homodimer olarak ortaya çıkar, hücreden hücreye geçişte, virüsün bağlanması ve hücreye girişinde önemli rol oynar. gB'ye karşı oluşan monoklonal antikorlar CMV'nin hücre içerisine girişini önlemektedir. Bu nedenle gB, CMV aşısı için aday bir antijen niteliği taşımaktadır (12,17). Konak hücre reseptörlerine bağlanma yönünden önemli görev yapmakta olan gH:gL'nin çoğalması, enfeksiyon yokluğunda sinsityum oluşumunu sağlar (25). UL100 kodlu gM ve UL73 kodlu gN, α -herpesvirüs replikasyonu için gerekli değilken, CMV replikasyonu için gereklidir (25). CMV'nin morfolojik yapısı şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. CMV'nin morfolojik yapısı (18).

2.4.Replikasyonu

CMV de diğer herpesvirüsler gibi konak hücrenin çekirdeğinde replike olmakta, replikasyon sırasında kendi DNA polimerazlarını kullanmaktadır. Viral DNA'nın kapsid içerisine yerleşmesi hücre çekirdeğinde gerçekleşirken, viral zarf ise konak hücrenin çekirdek zarından kazanılır. Virüsün çoğaldığı hücrenin içerisinde enfektif provirüsün oluşması daima değişik derecelerde hücre harabiyeti ile sonuçlanırken latent enfeksiyonda ise hücre harabiyeti yoktur. Genom sirküler yapıdadır ve viral antijenlerin

tamamı eksprese edilmez (1, 2, 17, 23). Replikasyon yaklaşık 48-72 saat kadar sürer. CMV replikasyonu en erken, erken ve geç dönemler olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilir. En erken gen ürünlerinin ekspresyonu çabuk olmasına karşın, erken ve geç gen ürünlerinin ekspresyonu ise 24-36 saat sonra başlar ve 72-96 saat sonra en yüksek düzeye ulaşır. CMV replikasyonunun gerçekleştiği hücreler; farklılaşmış insan hücreleri, makrofajlar, deri ve akciğer fibroblastlarıdır (1, 12, 17, 26). CMV replikasyonunda ilk aşamalar virüsün zarf glikoproteinleriyle hücre yüzeyine tutunması ve penetrasyonudur. Diğer herpesvirüslerde olduğu gibi heparan sülfat virüs-hücre ilişkisinin bu aşamasında rol alır. Ancak tam tutunmada henüz tam olarak belirlenememiş farklı reseptörlerin de olaya katıldığı düşünülmektedir. Tutunmada beta-2 mikroglobülin molekülü, hücre yüzeyi reseptörleri ile viral glikoproteinler arasında köprü oluşturur. Tutunmadan sonra viral zarf ve hücre zarının füzyonu ile penetrasyon gerçekleşir. Kapsid açığa çıkar ve viral DNA'yı çekirdek zarı porlarından çekirdeğe ulaştırır. Çekirdekte konak hücre RNA polimeraz II enzimi kullanılarak DNA'nın transkripsiyonu gerçekleşir. Başlangıçta yeni protein sentezine gereksinim duymadan en erken gen ürünleri sentezlenir. Bu gen ürünleri enfeksiyonun geç dönemine kadar eksprese olarak viral genom üzerine pozitif ve negatif düzenleyici şeklinde etki ederler. En erken dönem proteinleri sentezlendikten sonra sitoplazmada kümelenirler. Bu dönemde erken ve geç döneme ait mRNA'ların ortaya çıkmasına karşın translasyonları hemen olmamaktadır. Bunun sebebinin erken proteinlerin düzenleyici etkileri olduğu düşünülmektedir. Erken replikasyon döneminde nükleik asit bağlayan proteinlerin de sentezlenmesiyle birlikte, viral DNA polimeraz tarafından DNA'nın sentezi gerçekleşir. Geç dönemde yapısal proteinlerin sentezi olur. Bunlardan nükleokapsid proteinleri çekirdekte toplanır ve viral DNA kapsid içine yerleşir. DNA'yı içine alan nükleokapsidler çekirdek zarından zarflarını alarak perinükleer sisternalara tomurcuklanırlar ve sitoplazmik veziküller içinde hücre zarına taşınır, ekzositoz ile salınırlar (1, 12, 26).

2.5.Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

CMV, %20'lik eter solüsyonu ile 2 saatte, UV ışığında 5 dakikada, 56°C'de 30 dakikada inaktive olur. Ayrıca düşük pH derecelerine ve %10'luk sodyum hipoklorid solüsyonuna duyarlıdır. CMV vücut dışında yaşamaya dayanıklı değildir. Dondurup çözme işlemleri viral titrenin düşmesine neden olur. CMV ile enfekte hücrelerin

saklanması sıvı azot içinde, %20 fetal calf serumu ve %10 dimetilsülfoksit ilave edilmiş Eagle besiyeri ya da %20 dimetilsülfoksit ile desteklenmiş Eagle'ın minimal essential medium'u önerilmektedir. Diğer herpesvirüslere kıyasla -20°C'a dayanıklılığı daha azdır; -70°C'da saklanması gereklidir (2, 16, 17).

2.6.Epidemiyoloji

CMV enfeksiyonu endemik olup, seroprevalansı tüm toplumlarda yaşla birlikte artmaktadır ve oranı %40-100 arasındadır. Hayatın erken yıllarında kazanılan virüsün prevalansı kalabalık yaşam koşullarına sahip gruplarda en yüksektir. Bu durumun ortaya çıkmasında kötü hijyen koşulları yanında toplum içi yakın temas da yüksek risk faktörü olarak gündeme gelmektedir (17). CMV vertikal ve horizontal olarak bulaşabilir. Vertikal yolla bulaş, enfeksiyon gebelik döneminde geçirildiğinde söz konusudur ve fetüs transplasental olarak enfekte olur. Horizontal yolla bulaş ise virüsü saçan kişilerle yakın temas sonrası gerçekleşir. CMV; kan, tükürük, idrar, gözyaşı, semen, dışkı, servikovajinal sekresyonlar, anne sütü gibi pek çok vücut sıvısında bulunduğu için dolayısıyla bulaşma kan transfüzyonu, solid organ veya kemik iliği transplantasyonu, cinsel ilişki, emzirme ve virüsü saçan kişilerle yakın temas gibi çok çeşitli yollarla olabilmektedir (1,15). CMV enfeksiyonları, doğumdan önce (konjenital), doğum sırasında (perinatal) veya hayatın ileri yıllarında (postnatal) kazanılanlar olarak sınıflandırılabilir. Konjenital veya kazanılmış CMV enfeksiyonlarından sonra virüsün uzun süre etrafa saçılmasına bağlı olarak virüs, etrafa daha kolay yayılabilmektedir. Virüs salınımı primer enfeksiyon sonrasında haftalarca, aylarca ve hatta yıllarca devam edebilmektedir (1). Gebe bir kadında primer veya rekürren enfeksiyon sonrası transplasental enfeksiyon gelişebilir. Primer maternal enfeksiyonda fetusa CMV bulaşma riski ve semptomatik fetal enfeksiyon oranı daha yüksektir. Yenidoğanlar, enfeksiyonu doğum sırasında doğum kanalındaki virüsle temas ederek de kazanabilirler. Gebe kadınların yaklaşık %10'unun doğumda veya doğuma yakın dönemde genital kanallarında CMV bulunmaktadır ve virüs yenidoğanların yaklaşık %50'sine bulaşmaktadır. Virüs salınımı infantlar 3-12 haftalık olduklarında başlar ve genellikle asemptomatik kalır. CMV'nin anneden infanta anne sütü ile bulaşı da çok sıktır ve düşük doğum ağırlıklı prematür infantlar hastalık gelişimi açısından en yüksek riske sahiptirler (1, 2).

Ülkemizde gebelerde yapılan çalışmalarda CMV seroprevalans oranları %90'ın üzerinde bulunmuştur (27, 28, 29, 30).

Sosyoekonomik düzeyi yüksek toplumlarda yetişkinler arasındaki seropozitiflik oranı %50-60, gelişmekte olan toplumlarda ise %90-100'dür (17, 19, 31). Seroprevalans; Avrupa, Kuzey Amerika ülkelerinde ve Avustralya'da düşük, Afrika, Güneydoğu Asya ülkelerinde oldukça yüksektir. Bazı ülkelerde erişkinlerde yüksek oranda seyrederken, bazı ülkelerde %90-100 oranında çocuklukta kazanılmaktadır. Çok eşlilik, ilk cinsel ilişki yaşı ve korunma yöntemlerinin kullanılmaması gibi faktörler de CMV seroprevalansını etkilemektedir (32).

2.7.Patogenez ve İmmünite

CMV tükürük, idrar, kan, anne sütü ve genital sekresyonlar gibi enfekte vücut sıvılarının mukozal teması yoluyla vücuda girmektedir. Virüs ayrıca kan ürünleri ya da solid organ transplantasyonu ile de bulaşabilmektedir (11, 33).

CMV enfeksiyonunun patogenezinin temelini konak immün yanıtı oluşturmaktadır. CMV, konak hücrenin protein yapısını etkileyerek hücre çoğalması gibi bazı fonksiyonları bozmaktadır. Ayrıca fetal CMV enfeksiyonunda görülen merkezi sinir sistemi (MSS) anomalilerinde olduğu gibi bazı faktörlerin salınımını etkileyerek komşu hücrelerin fonksiyonlarını da engelleyebilmektedir (17).

Virüs tükürük bezi, böbrek duktal epitelyum, sekretuar glandları ve fibroblastları enfekte eder. CMV ile bir kez enfeksiyon sonrası birey virüsü hayat boyu taşır ve aralıklı olarak saçabilir. İlk olarak hücre nükleuslarında belirgin genişleme olur. Sitoplazmaları çok genişlemez. İntranükleer inklüzyon cisimcikleri gözlenir. Çok çekirdekli dev hücreler oluşur. Inklüzyonların etrafı boş şekildedir ve bunlar tipik olarak baykuş gözüne benzetilerek "owl eye" inklüzyon cisimcikleri olarak isimlendirilir (34).

Herpes Simplex Virüs (HSV), *Varicella Zoster Virüs* (VZV) gibi diğer herpesvirüsler belirli bölgelerde latent olarak kalırken CMV çok çeşitli bölgelerde latent kalabilir. Latent enfeksiyon sırasında periferik mononükleer hücrelerden ya da kemik iliğinden kaynaklanan mononükleer hücrelerin %0.004-%0.01'inde CMV viral genomu bulunur. Bu genomlar da her enfekte hücrede 2-13 kopya kadardır (35). Genomik hücre DNA'sı monosit/makrofajlar (36), lenfositler ile CD34+ kemik iliği hücreleri (37), immatür

dendritik hücreler (38) ve endotel hücreleri (39, 40) gibi çeşitli hücre gruplarından izole edilebilir (41).

CMV *in vitro* şartlarda monositler, endotel hücreleri, damarlardaki düz kas hücreleri ve bazı CD8+ T hücrelerinde üretilmiştir. CMV enfeksiyonunun kontrolünde hücrel bağışıklık sorumludur. Erken dönemde özellikle doğal öldürücü (NK) hücreler ve CD8+ T lenfositler koruma sağlamaktadır. CMV enfeksiyonu güçlü bir spesifik hücrel immün yanıt indüklemesine rağmen, enfeksiyon aynı zamanda immüsupresyon da yapabilmektedir. Bu nedenle sekonder bakteriyel veya fungal enfeksiyonlara (*Pneumocystis jirovecii (carini)*, *Aspergillus fumigatus* ve *Candida albicans* gibi) predispozisyon oluşturmaktadır. (34).

CMV enfeksiyonlarının bazı özellikleri virüsün immün sistemden kaçarak vücutta persistan kalmasına yardım edebilir (1, 2). Bunlardan biri virüsün yavaş üremesi ve hücreden hücreye füzyonla yayılması nedeniyle antikor nötralizasyonundan sakınmasıdır (42). İkincisi, CMV enfeksiyonun hücre yüzeyinde MHC Sınıf I proteinlerini azaltmasıdır. Böylece enfekte hücrelerin sitotoksik T hücrelerinin lizisinden kurtulmalarını sağlar. Bunun dışında bir CMV proteini olan (UL18), MHC-sınıf I ağır zinciriyle homoloji göstermekte ve beta-2 mikroglobülin ile ilişkiye geçmektedir. Böylece CMV hem T hücrelerini tanıma mekanizmasına müdahale eder, hem de serbest virionları kaplayarak bunları antikorlardan korur (1, 2).

CMV spesifik antikorlar CMV'den korunma sağlar ve hastalığın yayılmasını ve ciddi enfeksiyon gelişme riskini azaltır. Seropozitif annelerden doğan bebeklerde anneden geçen antikorların CMV'ye karşı koruyucu olması ve seropozitif annelerdeki antikorların fetal enfeksiyonu engellemesi CMV enfeksiyonundan korunmada humoral yanıtın önemli olduğunu göstermektedir (10,17).

2.8.Hastalık ve Klinik Bulgular

CMV'nin insanlarda oluşturduğu klinik tablo; CMV enfeksiyonu, CMV sendromu ve CMV hastalığı şeklinde ortaya çıkmaktadır. CMV enfeksiyonu; herhangi bir semptom olmaksızın hasta örneklerinden virüsün izole edilmesi, viral DNA'nın, viral antijenlerin veya anlamlı antikor yanıtının saptanmasıdır. CMV enfeksiyonuna eşlik eden semptomlarla birlikte CMV sendromu meydana gelir. İki gün ve üzerinde devam eden >38°C ateş, yeni veya artmış halsizlik, %5 ve üzerinde atipik lenfositler, lökopeni, trombositopeni, normal üst sınırın iki katından daha fazla alanin aminotransferaz (ALT)

veya aspartat aminotransferaz (AST) (sadece karaciğer dışı transplant alıcısı olanlar) düzeyi ve CMV pozitif kan kültürüyle bağlantılı semptomlar; CMV antijenemi veya DNA/RNA pozitifliği olup, semptomların ve bulguların başka hiçbir nedeninin belirlenmemiş olduğu CMV enfeksiyonu, CMV sendromu olarak adlandırılır. CMV hastalığı ise, CMV enfeksiyonu gelişmiş bireylerde görülen pnömoni, hepatit, kolit, retinit, meningoensefalit gibi doku invazyonunun semptom ve bulguları ve CMV pozitif doku örneklerinin bulunduğu invaziv doku hastalığıdır (43).

Klinik tablolar; normal konaklarda CMV enfeksiyonu, immün yetmezliği olan konaklarda ve solid organ alıcılarında CMV enfeksiyonu, konjenital CMV enfeksiyonu olarak ele alınabilir (44, 45, 46).

2.8.1. Normal Konaklarda CMV Enfeksiyonları

Normal konaklarda CMV'ye bağlı primer enfeksiyonların büyük bir bölümü genellikle subklinik seyirlidir. Çocuk ve erişkinlerde virüs ile temastan sonra çoğu kez 4-8 haftalık bir kuluçka döneminin ardından enfeksiyöz mononükleoz benzeri bir hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır (16). Mononükleoz tablosunda ateş, halsizlik, lenfadenopati, miyalji, splenomegali, karaciğer fonksiyon testlerinde (KCFT) bozukluk ve lenfositöz görülür. Atipik lenfosit sayısı artar (>%10), heterofil antikor testi negatiftir. Subklinik hepatit gelişebilir. Uzun süreli CMV enfeksiyonu normal konaklarda böbrekte genellikle hasara yol açmamaktadır. Ancak CMV enfeksiyonunda tükürük bezlerinin tutulumu sıktır ve muhtemelen kroniktir. Primer CMV enfeksiyonlarında hücresel immünite baskılanır ve aylar sonra normale döner. Bu durumun viral persistansa neden olabildiği düşünülmektedir (1, 47).

2.8.2. İmmün Yetmezliği Olan Konaklarda ve Solid Organ Alıcılarında CMV Enfeksiyonları

Bu hastalarda enfeksiyonlar; latent virüsün reaktivasyonu veya verilen kan ya da nakledilen organdaki ekzojen virüsle primer enfeksiyon veya reenfeksiyon sonucunda gelişebilir. Primer enfeksiyon sonrasında daha şiddetli semptomlar meydana gelir. Bununla birlikte ağır immün yetmezliği olan konakta meydana gelen reaktivasyon veya reenfeksiyon da ciddi hastalık tablosu oluşturabilir. Aktif enfeksiyon sıklıkla, transplantasyondan sonra immünsüpresyonun en üst noktaya ulaştığı 1.-4. aylar arasında veya HIV ile enfekte kişiler için CD4+ lenfosit sayısı 50 hücre/ μ l'nin altına düştüğünde gelişir. Organ transplant alıcılarında CMV enfeksiyonu sıklığı ve şiddeti transplant

tipine, nakledilen organın kaynağına, alıcının immün durumuna ve immüsupresif tedavinin süresine bağlıdır. Bu hastalarda belli başlı semptomlar genellikle ateş, halsizlik, letarji, miyalji veya artralji, lökopeni, trombositopeni ve hepatit seklindedir. Spesifik organ hasarları; akciğer veya kalp-akciğer alıcılarında pnömoni; kardiyak alıcılarda myokardit, retinit, ilerleyici vasküler hasar ve ateroskleroz; karaciğer ve pankreas alıcılarında sırası ile hepatit ve pankreatit ile sonuçlanabilir, gastrointestinal hastalık gelişebilir (3). Kemik iliği transplantasyonu (KİT) sonrasında en sık 28. gün ile 100. günü kapsayan dönemde ortaya çıkan CMV enfeksiyonu, bu hastalarda önemli morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. CMV'nin KİT alıcılarında hayatı tehdit eden en önemli komplikasyonu pnömonidir (19). KİT yapılanlarda CMV pnömonisinin ağır seyretmesinin nedenlerinden biri olarak, akciğerlerde graft-versus-host hastalığı (GVHD) varlığı ileri sürülmüştür (47). Klinik yelpaze hastanın serolojik durumuna göre değişkenlik gösterir. Seronegatif alıcıya [(R)(-)] seropozitif vericiden [(D)(+)] organ nakli yapıldığında alıcıda primer CMV enfeksiyonu gelişebilir. Böyle bir serolojik durumda seronegatif alıcılara riski azaltmak için filtre edilmiş kan kullanılmalıdır (48). Seropozitif alıcıda ise CMV reenfeksiyon şeklinde gelişir (48). CMV seronegatif alıcılarda gelişen primer CMV enfeksiyonu, immünolojik bellek yokluğuna bağlı olarak viral replikasyon sınırlanamadığından, şiddetli hastalık tablolarına yol açar. CMV seropozitif alıcılarda gelişen sekonder enfeksiyonlar, immünolojik bellek sayesinde sınırlanabilir, bu nedenle genellikle asemptomatik ya da hafif seyrederek. Ancak yine de immün yetmezlik derecesine ve kullanılan immüsupresif tedaviye bağlı olarak CMV hastalığı oluşabilir (2,16).

2.8.3.Konjenital CMV Enfeksiyonları

CMV enfeksiyonu konjenital enfeksiyonların en sık saptanan nedenidir ve yenidoğan infantların %0,2-2,5'inde saptanmaktadır (1). Konjenital CMV enfeksiyonu annenin primer enfeksiyonu esnasında veya enfeksiyonun reaktivasyonu sonucu oluşmakta, bununla beraber yenidoğan hastalığının ortaya çıkması özellikle primer enfeksiyonla ilgili olmaktadır. Primer maternal CMV enfeksiyonlarında fetüsü etkileme olasılığı %50 civarında iken, bu oran rekürren enfeksiyonlarda %1'den azdır (2, 16). Konjenital enfeksiyonun ağırlığını etkileyen faktörler tam olarak bilinmemekte olup, presipitan antikörlerin oluşumundaki kapasite yetersizliği ve T hücre cevabındaki yetersizlik ile ilgili olduğu düşünülmektedir (15, 49). Konjenital CMV enfeksiyonu, intrauterin veya

perinatal bulaş sonucu gerçekleşmektedir (50). Konjenital olarak enfekte infantların %5'den azında yenidoğan döneminde semptom gelişir. Olası belirtiler: intrauterin gelişme geriliği, sarılık, hepatosplenomegali, peteşi, trombositopenik purpura, miyokardit, pnömoni, santral sinir sistemi anomalileri ve korioretinit gibi şiddetli hastalıktan daha sınırlı tutulumla kadar değişebilir (1). Bu belirtiler doğumda olabileceği gibi doğumdan sonraki ilk günlerde de ortaya çıkabilir. Klinik tablo hafif veya çok ağır olabilir, ölümlü sonuçlanabilir. Bu bulgular sıklıkla çok azdır ve CMV'ye spesifik olmadıkları için bu bebeklerde CMV'nin araştırılmadığı belirtilmektedir (51).

2.9.CMV'nin Laboratuvar Tanısı

CMV enfeksiyonunun laboratuvar tanısı üç ana başlıkta toplanabilir:

Direkt İnceleme

Virüs İzolasyonu

Serolojik Testler

2.9.1. Direkt İnceleme

2.9.1.1. Histopatolojik İnceleme

Lokalize CMV organ hastalıklarının tanısında Wright-Giemsa, Hematoksilen-Eosin (HE), Papanicolau (PAP) ile boyanmış biyopsi örnekleri yararlı olabilir. Bu örneklerdeki incelemelerde, bazofilik intranükleer inklüzyonlar içeren tipik sitomegalik hücreler ve eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar görülebilmektedir. Nükleer inklüzyon, sınırında belirgin kromatin içerdiği için ve bunun etrafındaki açık alan nükleer membrana kadar uzandığı için baykuş gözü (*owl's eye*) görünümüne sahiptir. Histopatolojik yöntemlerin, özgüllüğü yüksek (%97) olmasına rağmen, duyarlılıkları (%84) düşüktür (52). Bunun nedeni CMV'nin morfolojik değişiklikler yapmadan da dokuları enfekte edebilmesidir. Tipik sitomegalik hücrelerin görülmemesi CMV enfeksiyonu olmadığı anlamı taşımamaktadır. Histopatolojik yöntemlerin duyarlılığı, histokimyasal boyama ve in situ hibridizasyon ile artırılabilir (8, 19). İdrar, tükürük, anne sütü, servikal sekresyonlar ve CMV ile enfekte dokulardan hazırlanan sürme (değdirme) preparatlarda eksfoliyatif sitolojik testler (EST) kullanılarak inklüzyon içeren enfekte hücreler gösterilebilmektedir. Bu yöntemin özgüllüğü yüksek, duyarlılığı düşüktür. Yalancı negatif sonuçlarla sıklıkla karşılaşmaktadır (1,16). Virüs

izolasyon yöntemlerinin uygulanamadığı durumlarda EST tanıda yararlı yöntemlerden biridir (1).

2.9.1.2. Antijenemi (pp65) Testi

CMV antijenemi (pp65) testi, transplant alıcıları ve HIV ile enfekte kişilerde periferik kan lökositlerinde CMV'nin araştırılması ve kantitasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır (53). Antijenemi testi CMV enfeksiyonunun erken tanısında duyarlı, spesifik ve hızlı bir yöntemdir. Test, 2-4 saat içinde tamamlanıp, aynı gün içinde sonuçlandırılmaktadır. Bu test ile CMV, semptomların başlangıcından önce saptanabilir ve viral yük kantite edilebilir. Bu kantitasyon CMV hastalığını öngörmeye ve asemptomatik enfeksiyondan ayırt etmeye faydalıdır. Ayrıca, CMV hastalığı açısından yüksek riskli kabul edilen hastaların rutin takibinde de kullanılabilir. Yapılışı nispeten kolay olan bu test, periferik kan lökositlerinde virüsün 65 kilodalton (kDa) büyüklüğünde alt matriks fosfoproteininin (pp65) immünohistokimyasal olarak saptanması esasına dayanır. Enfekte hücrelerin nükleusunda homojen görünümüne elma yeşili floresan varlığı pozitif olarak değerlendirilmektedir (54, 55). CMV'nin pp65 proteini immün yetmezlikli hastaların kan dolaşımında endotel hücrelerde de bulunabilmektedir. Bu hücrelerdeki enfeksiyonun organ tutulumu ve daha ileri hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Antijenemi testinin en büyük avantajı kan örneklerinde CMV'nin saptanmasında hücre kültürü yöntemlerine kıyasla daha yüksek duyarlılığa sahip olmasıdır. Antijenemi testinin sonuçları, moleküler amplifikasyon testleri ile elde edilen kantitatif CMV DNA sonuçları ile uyumludur (58). Hazırlanan preparatlardaki lökosit sayısı yaklaşık olarak 2×10^5 olduğundan dolayı sonuçlar, pp65 pozitif hücrelerin, değerlendirilen tüm lökositlerin toplam sayısına oranı şeklinde ifade edilmektedir (pozitif hücre sayısı/200.000 lökosit). Tedavi için antijenemi testinde önerilen eşik değeri hastaya göre farklı olmaktadır. Solid organ transplantasyonunda 10, hematopoetik kök hücre transplantasyonunda ise 1 pozitif hücre varlığı tedavi başlaması için yeterli kabul edilmektedir (56, 57).

CMV enfeksiyonu ya da hastalığının takibinde, antiviral tedavi süresi ve ilaç direncini belirlemede antijeneminin kantitatif düzeyinin bilinmesi önemlidir (1,58). Transplantasyondan sonra nötropenik olan hastalarda CMV antijenemi testi negatif sonuç verebilir. Bu durumda CMV DNA'nın PCR ile çalışılması önerilmektedir (59). Özellikle fazla sayıda örnek olduğunda zahmetli ve zaman alıcı olması,

immünohistokimyasal teknikler ve değerlendirmede deneyimli personel gerektirmesi testin dezavantajlarıdır (55).

2.9.1.3. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri

Nükleik asit amplifikasyon testleri CMV tanısında ve takibinde giderek artan oranda kullanılmakta ve moleküler olmayan testlerin yerini almaktadırlar. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), CMV DNA ve mRNA saptanmasında günümüzde en yaygın kullanılan moleküler yöntemdir.

Amplifikasyon; çok-erken antijen I, majör çok-erken antijen, DNA polimeraz, glikoprotein B ve H, EcoRI D fragmanı, HindIII X fragmanı, pp65, pp67, ve majör kapsid proteini gen bölgelerini hedefleyen çok çeşitli primerler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. PCR, immün yetmezliği olan hastaların devamlı monitorizasyonunda ve antiviral ilaçların etkinliğinin değerlendirilmesinde faydalı olmaktadır (60).

PCR'ın aktif CMV hastalığıyla, asemptomatik veya latent enfeksiyonun ayırt edilmesinde yetersiz olabileceği düşünülmektedir. Viremi varlığı CMV hastalığının en iyi göstergesi olarak kabul edilmekte ve PCR ile tam kan, saflaştırılmış periferik kan lökositleri, plazma ve serumda CMV DNA yüksek duyarlılıkla tespit edilebilmektedir (61, 62). Bu örneklerde CMV DNA'nın kalitatif olarak saptanması immün yetmezliği olan hastalarda semptomatik hastalığı öngörmede ve antiviral tedavi başarısını değerlendirmede sınırlı değere sahiptir. Konjenital CMV enfeksiyonu tanısında idrar, doku, amniyon sıvısı veya fetal kanda; ensefaliti veya poliradikülomyeliti olan hastaların beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde; CMV retinitisi olan hastaların aköz veya vitröz sıvı örneklerinde CMV DNA kalitatif olarak araştırılabilir.

Antijenemi testi ile benzer olarak, CMV hastalığını öngörme ve tanı koymada viremi düzeyinin belirlenmesi gereklidir (59, 63). Bunun sonucunda çok sayıda kantitatif ve semikantitatif moleküler test geliştirilmiştir. Bunlar, konvansiyonel PCR ve kantitatif RT-PCR gibi hedef ve sinyal amplifikasyon yöntemleri, "branched DNA" teknolojisi ve hibridizasyon temelli yöntemlerdir (64, 65). Bu testlerin performansı antijenemi testi ve kültür yöntemi ile ve aynı zamanda birbirleri ile de karşılaştırıldığında moleküler yöntemler, antijenemi testi ile uyumlu sonuçlar sağlamaktadır. Bazı çalışmalarda CMV antijeni ve PCR testleri arasında yüksek korelasyon bulunurken, bazılarında PCR testi antijenemiye göre daha duyarlı bulunmuştur. Bununla birlikte kantitatif PCR testleri

antijenemiye göre daha sıklıkla kullanılmaktadır. CMV DNA PCR testi daha iyi standardizedir, artmış örnek stabilitesi vardır ve daha küçük örnek hacmine sahiptir ve lökopenisi olan hastalarda test edilmesi mümkündür. Kantitatif PCR, CMV enfeksiyonunda hızlı ve duyarlı tanı için, preemtif tedavi ve tedavi cevabına rehberlik etmede kullanışlıdır (66). Ancak, moleküler yöntemler CMV enfeksiyonunu saptamada kültürden daha duyarlı olup, klinik semptomlar başlamadan önce CMV'yi tespit edebilirler. Aktif CMV enfeksiyonu olan transplant alıcılarında ve AIDS hastalarında daha yüksek CMV DNA düzeylerine rastlanmaktadır. CMV viral yükündeki hızlı artış, semptom varlığı ve tedavi sırasında ilaç başarısızlığı ile ilişkilidir (65, 67, 68).

Moleküler testler, CMV DNA'nın saptanması ve kantitasyonunda duyarlı, özgül ve tekrarlanabilir olup, sonuç verme zamanını kısaltarak hasta bakımı ve takibinde fayda sağlamaktadır. Hem kalitatif hem de kantitatif testler için belirgin standardizasyon gereksinimi vardır. Yöntemlerin çoğunun, teknolojiye bağımlı ve pahalı olması yanında uygulama için yüksek derecede teknik uzmanlık gerektirmesi önemli dezavantajlarıdır. Bununla birlikte nükleik asit amplifikasyon yöntemleri; mevcut hastalığın hızlı tanısında, hastalık gelişme riski olan hastaların belirlenmesinde, hastalığın prognozunu ve relaps riskini belirlemede, preemtif tedavinin planlanmasında, tedaviye yanıtı takip etmede ve viral direnç veya tedavi başarısızlığını öngörmede çok değerli katkılar sunmaktadır (69, 70).

2.9.1.4. Direkt Saptama Yöntemleri

CMV'nin, dokulardan, bronkoalveoler lavaj (BAL) örneklerinden, periferik kan lökositlerinden, servikal sekresyonlardan ve idrardan direkt olarak saptanmasında; elektron mikroskopisi, sitoloji ve moleküler dot blot veya in situ hibridizasyon teknikleri de kullanılmaktadır. Viral proteinlere karşı antiserum içeren enzim linked immünassay (ELISA) ve dot immünoperoksidaz yöntemi, klinik örneklerde CMV antijenlerinin saptanmasında kullanılan diğer yöntemlerdir. Bunlar duyarlılıkları düşük yöntemler olup, çoğu klinik laboratuvarında rutin olarak kullanılmazlar (1).

2.9.2. Virus İzolasyonu

2.9.2.1. Hücre Kültürleri

CMV'nin hücre kültürlerinde üremesini en iyi insan fibroblastları desteklemektedir ve bu nedenle tanısıl amaçla fibroblastlar kullanılırlar. Kabul edilebilir fibroblast kültürleri içinde; insan embriyonik dokularından ya da sünnet derisinden ve W1-38, MRC-5, IMR-90 gibi insan diploid fetal akciğer hücrelerinin seri pasajlarından hazırlananlar bulunmaktadır. Diploid fibroblast hücreleri; hücre jenerasyonları arttıkça CMV enfeksiyonuna daha az duyarlı hale gelebilecekleri için, az sayıda pasajlanarak kullanılmalıdır (1). Kültür yöntemleri, immünitesi baskılanmış kişilerde CMV hastalığı tanısında tek başına kullanışlı olmamaktadır. Ancak yenidoğanların tükürük ya da idrarından CMV izolasyonu, konjenital CMV enfeksiyonu tanısında halen kullanılmaktadır (58).

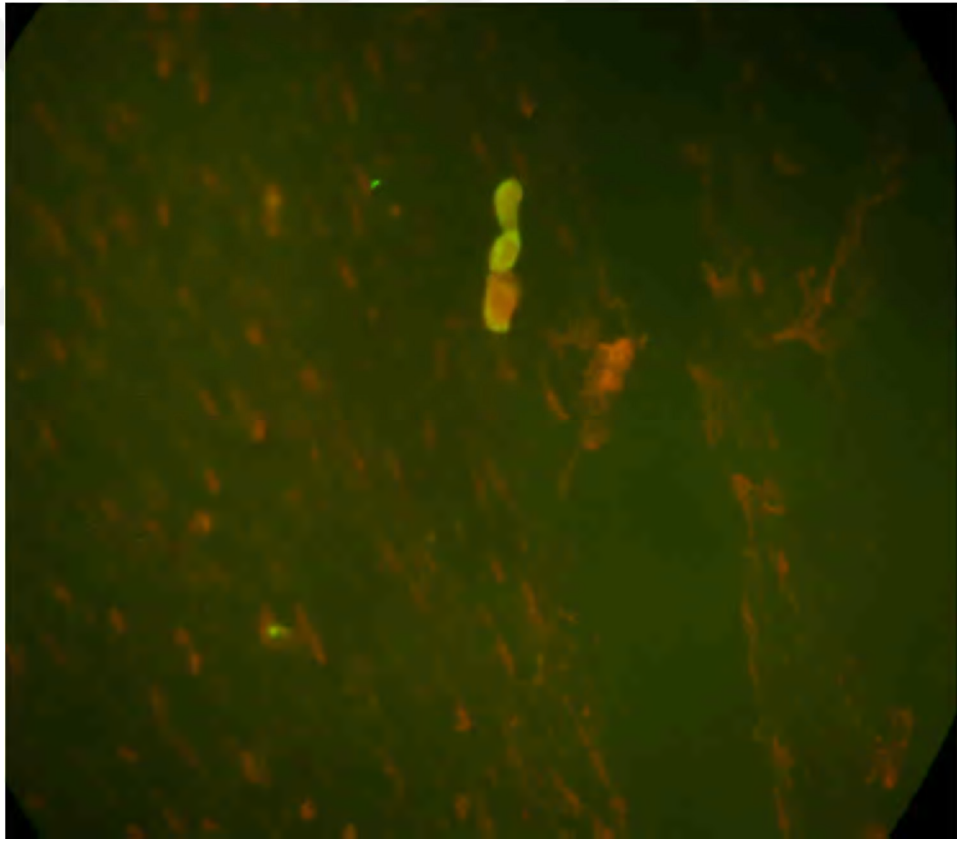
2.9.2.2. Konvansiyonel Hücre Kültürleri

Kültürde tanı, virüsün üremesi sırasında meydana getirdiği sitopatik etkinin (CPE) görülmesi ile konmaktadır (71, 72). CPE oluşup oluşmadığını kontrol etmek için tüpler ilk beş günde her gün, sonra en az dört hafta boyunca haftada iki kez incelenir. CPE'nin görülme zamanı klinik örneklerdeki virüs miktarı ile ilişkilidir. Kültürdeki sitopatik değişiklikler, genellikle ilk haftada gelişmekte ve hücreler geniş, yuvarlak, refraktil şeklinde görülmektedir (1). Adenovirüs ve VZV de hücre kültüründe CMV gibi CPE oluşturabilmektedir (1). Bu nedenle şüpheli CMV izolatları en iyi olarak çeşitli ticari kaynaklardan sağlanabilen monoklonal veya poliklonal antikolar içeren immünofloresan testler ile doğrulanırlar. Enfekte hücrede tipik nükleer floresan görünümü CMV varlığına işaret eder. Şüpheli izolatların doğrulanmasında PCR veya diğer moleküler amplifikasyon yöntemleri de kullanılabilir (1).

2.9.2.3. Shell Vial Hızlı Hücre Kültürü

Gleaves ve ark. (72) tarafından tanımlanan shell vial yöntemi ile hızlı çoğaltma, klinik örneklerde CMV saptanmasında hızlı kültür metodu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Shell-vial yönteminde MRC-5 hücrelerinin yanı sıra mink akciğer (ML) hücreleri de kullanılabilir. Bu hücrelerin avantajı; duyarlılık azalmadan uzun süre pasajlanabilmesi, CMV pozitif hücre sayısında artış sağlaması ve toksisitede azalmaya neden olmasıdır (1). Bu teknik, santrifüj sonrası virüsün hücre kültüründe

çoğaltılması temeline dayanmaktadır ve CPE oluşmadan önce, CMV replikasyonunun erken döneminde oluşan viral antijenler saptanır. Bu yöntemde örneklerde bulunan düşük titrelerdeki virüs bile kolayca çoğaltılarak 24 saat içinde saptanabilir. Monoklonal antikorlar ticari olarak bulunmaktadır ve CMV'nin erken antijenlerinin saptanmasında kullanılmaktadırlar. Pozitif hücreler kırmızı sitoplazmik zemine karşı, elma yeşili floresan veren nükleuslar içerirler. Çok-erken antijen; açık yeşil benekleri olan elma yeşili floresan boyanma şeklinde görülür (Şekil 2). Nükleuslarda viral inklüzyonlar (baykuş gözü) görülebilir. Shell vial yöntemi ile hızlı çoğaltma, konvansiyonel virüs izolasyonunun güçlü bir tamamlayıcısıdır (1).



Şekil 2. Shell vial kültürde enfekte MRC-5 hücrelerinde CMV erken antijenlerin nükleusta gösterilmesi (Prof.Dr. S.Gökahmetoğlu'nun arşivinden).

2.9.3. Serolojik Testler

Serolojik yöntemler, CMV'ye spesifik antikorların saptanmasına dayanır. Bu yöntemler ile CMV IgG ve CMV IgM antikorları araştırılmaktadır. CMV antikorlarının saptanması için yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip çok sayıda test bulunmaktadır (73). Hangi testin uygulanacağına karar verirken; çalışılacak örnek sayısı, hasta popülasyonu, fiyat, çalışma süresi, gerekli ekipman ve uygulama kolaylığı gibi faktörler değerlendirilmelidir. Metot, her laboratuvarın kendi gereksinimlerine göre seçilir. Küçük kapasiteli laboratuvarlar için immünofloresan antikor (IFA) ya da pasif lateks aglütinasyon testleri daha verimli ve pratik olabilirken, ELISA testleri daha yüksek örnek kapasiteli laboratuvarlar için uygun olabilir. Genel olarak, CMV spesifik IgM saptanması ya da pozitif serokonversiyonun gösterilmesi belirli klinik durumlarda primer CMV enfeksiyonlarının tanısında kullanılabilir. Bu testlerle kan ile organ verici ve alıcılarının taranması; ağır CMV hastalığı yönünden yüksek riskli hastalara latent CMV geçişinin önlenmesinde önemlidir (1).

2.9.3.1.ELISA

Hızlı, duyarlı ve özgül bir yöntem olan ELISA ile çok sayıda örnek, nispeten düşük maliyetle ve günlük çalışılabilmektedir. Ancak, kompleks viral lizatların kullanılması nedeniyle diğer herpesvirüslerle çapraz reaksiyon meydana gelebilmektedir. Son zamanlarda sentetik peptidler ve rekombinant proteinlerin kullanılması ile testin standardizasyonu sağlanmış olup, duyarlılık ve özgüllüğü de artmıştır (58, 74).

İmmünkompetan konaktan farklı olarak, immün yetmezlikli olgularda primer enfeksiyon sırasında bazen saptanamaması, bazı durumlarda ise primer enfeksiyondan uzun bir süre sonra bile pozitif kalması sebebiyle Anti-CMV IgM tayininin bu olgularda tanılma değeri yoktur ve duyarlılığı düşüktür (75, 76).

2.9.3.2.IFA

CMV'ye spesifik antikorlarının saptanmasında indirekt ve antikompleman IFA sıklıkla kullanılmaktadır (77, 78). İndirekt IFA'da, dilüe edilmiş serum örnekleri virüsle enfekte hücrelerle inkübe edilir ve oluşan antijen-antikor kompleksleri floresan izotiyosiyanat (FITC) ile konjüge anti-insan antikorları kullanılarak tespit edilmektedir. Antikompleman IFA'da ise farklı olarak serumun önceden ısıtılması ile endojen kompleman aktivasyonu ortadan kaldırılır, sonra virüsle enfekte hücrelere ekilerek

inkübe edilir. Daha sonra eklenen kompleman, antijen-antikor kompleksine bağlanır. Floresan işaretli anti kompleman antikorlar ilave edilir ve kompleman C3'e bağlanır. Hazırlanan preparatlar floresan mikroskopta değerlendirilir. IFA, CMV antikorlarını kalitatif ve kantitatif olarak tespit edebilen duyarlı, kolay, hızlı ve pahalı olmayan bir testtir. Dezavantajları ise preparatın değerlendirilmesi için floresan mikroskop ve karanlık odaya; testin değerlendirilmesi ve sonuçların yorumlanması için de deneyimli personele ihtiyaç olmasıdır (1).

2.9.3.3.Pasif Lateks Aglutinasyon Testi

Serum ve plazmadaki CMV antikorlarını saptamaya yönelik bir test olan pasif lateks aglutinasyon, basit, hızlı ve pahalı olmayan bir yöntemdir (79, 80, 81, 82). Viral antijenlerle kaplanmış lateks partiküllerini içeren süspansiyon test edilen serum ile karıştırılır. CMV'ye spesifik antikorların varlığında antijenle kaplı lateks partiküllerinde kümeleşme meydana gelerek aglutinasyon oluşturur ve oluşan bu aglutinasyon çıplak gözle görülebilir. Bu yöntemde IgG ve IgM antikorları birlikte saptanır. Test süresi 10-15 dakika olup, yoğun yıkama, uzun inkübasyon süresi veya pahalı ekipman gerektirmez. Aglutinasyon paternlerinin fark edilmesinin güçlüğü ve değerlendirmenin subjektifliği en önemli dezavantajlarıdır (1).

2.9.3.4.Anti CMV IgM Antikor Ölçümleri

Anti-CMV IgM, primer enfeksiyon varlığında ilk yükselen antikor olup primer enfeksiyon, reenfeksiyon veya latent enfeksiyonun reaktivasyonunda kanda bulunabilir ve 16 haftaya kadar saptanabilir seviyelerde kalmaya devam eder. Bu süre bazen bir yıl veya daha da uzun olabilir. Anti-CMV IgG ise primer enfeksiyonu takiben 2-3 hafta içinde ortaya çıkar ve ömür boyu kalıcıdır. Ancak immüsuprese hastalardaki tekrarlayan veya primer enfeksiyonda Anti-CMV IgM saptanamayabilir. Anti-CMV IgG, immün durumu belirleyici bir tarama testi olarak da kullanılmaktadır. Anti-CMV IgG pozitifliği, CMV reaktivasyonu ve reenfeksiyonundan koruyucudur. (83, 84).

Anti CMV IgM testlerinin bir diğer dezavantajı da yalancı pozitif ve yalancı negatif reaksiyonlar olabilmesidir. Yalancı pozitif reaksiyonlar özellikle serumda spesifik Anti-CMV IgG varlığı ile birlikte, yüksek düzey romatoid faktör varlığında meydana gelebilir. Yalancı negatif reaksiyonlar ise yüksek düzeyde Anti-CMV IgG antikorlarının CMV antijenine bağlanmada IgM sınıfı antikorlar ile yarışarak onları bloke etmesi durumunda görülebilmektedir. Bu nedenle, hem yalancı pozitif, hem de yalancı negatif

IgM test sonuçlarının önlenmesi için testten önce IgM ve IgG fraksiyonlarının ayrılması önerilmektedir (1). Bu amaçla uygulanan bazı basit ve hızlı yöntemler bulunmaktadır. Bunlar, jel filtrasyon, afinite kromatografisi, solid faz selektif IgM absorpsiyon testleri ve anti-insan IgG hiperimmuglobülin, stafilokok protein A veya grup G streptokoklardan elde edilen protein G kullanarak IgG'nin ortadan kaldırılması temeline dayanmaktadır. Son dönemlerde yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlardan sakınmak için başvurulan bir diğer yaklaşım da “*reverse capture*” solid-faz IgM testleridir.

Konjenital CMV enfeksiyonlarının tanısında IgM sınıfı antikorlar plasentayı geçemediği için enfekte bir yenidoğandan alınan tek bir serum örneğinde pozitif sonuç tanı koydurucudur. Bununla birlikte, yenidoğanda IgM üretiminde eksiklik veya gecikme olabileceği unutulmamalıdır. CMV'ye spesifik IgM sınıfı antikorların varlığının test edilmesi yenidoğan döneminden sonra genellikle önerilmez. Çünkü IgM sınıfı antikorlar hem primer CMV enfeksiyonu hem de reaktivasyonda görülebilmekte ve primer enfeksiyonu takiben bir süre daha saptanmaya devam edebilmektedir. Bu durum özellikle gebeler veya immün yetmezlikli hastalar için test sonuçlarının değerlendirilmesinde güçlükler yol açmaktadır. Yenidoğanlara benzer olarak, immün yetmezlikli kişilerde de yeterli düzeyde IgM antikor yanıtı oluşmayabilir. Son olarak, Epstein-Barr virüsünün neden olduğu enfeksiyöz mononükleozlu hastalarda görülen heterotopik IgM üretimi yalancı pozitif Anti-CMV IgM test sonuçlarına neden olabilir (1).

2.9.3.5. IgG Avidite Testi

CMV IgG avidite testi primer CMV enfeksiyonunun tanısında kullanılan yardımcı bir testtir. Virüse spesifik IgM ve IgG antikorlarının birlikte pozitif saptandığı durumlarda enfeksiyonun primer veya sekonder ayrımının yapılması gerekir. Virüse spesifik IgM antikorları reenfeksiyon, reaktivasyon, klinik veya subklinik geçirilen akut enfeksiyonların bazılarında sonra serokonversiyonun uzaması durumlarında pozitif olarak saptanabilmektedir. Primer enfeksiyonun başında CMV IgG aviditesi düşük iken, 4-6 ay sonra yükselmektedir. Primer ve sekonder enfeksiyon ayrımının yapılması özellikle gebelerde ve immün yetmezliği bulunan hastalarda önem kazanmaktadır (11).

2.10.Tedavi

İmmünkompetan konakta, herpesvirüs enfeksiyonlarının çoğu kendi kendini sınırladığı için sadece destek tedavisi yeterlidir. Bunlar dinlenme, hidrasyon, uygun antipiretik kullanımı, analjezik kullanımı ve cilt lezyonlarının sekonder bakteriyel enfeksiyonlarını önlemek için verilen tedavidir (34).

Solid organ ve KİT hastalarında CMV hastalığını önlemede 2 strateji vardır:

1. Profilaktik tedavi ; CMV riski olan bütün alıcılara verilir.
2. Preemptif tedavi; sadece CMV reaktivasyonu olan hastalara verilir. Böylece CMV hastalığının insidansı ve şiddeti azalmış olur.

CMV hastalığı tedavisinde kullanılan başlıca antiviral ajanlardan biri olan gansiklovir, özellikle alıcının seronegatif, vericinin seropozitif olduğu KİT yapılan hastalarda profilaktik olarak verilmesi önerilmektedir (85).

İmmünsüprese hastalarda, CMV enfeksiyonunun profilaktik ve preemptif tedavisinde antiviral ilaçlar kullanılmaktadır (86, 87). CMV enfeksiyonlarının tedavisinde önceleri alfa interferon, transfer faktör, asiklovir, vidarabin ve hiperimmünglobulinlerle çalışmalar yapılmış ancak başarılı sonuçlar alınamamıştır (15). Şimdilerde CMV enfeksiyonlarının tedavisinde, gansiklovir (GCV), foskarnet (FOS), sidofovir (CDV), valgansiklovir (VGCV) ve fomivirsen, valasiklovir (VACV), maribavir (MBV) gibi ilaçlar kullanılmaktadır (1). Bu ilaçlar birçok hastada klinik düzelme sağlamakla birlikte, oral yoldan biyoyararlanımlarının az olması, düşük etki gücünde olmaları, zamanla direnç gelişebilmesi, doza bağımlı yan etkileri ve hospitalizasyona ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları mevcuttur (88, 86).

2.10.1.Gansiklovir

GCV, viral DNA polimeraz (*UL54*)'ın yarışmalı inhibitörüdür (88, 14). İnsanlardaki CMV hastalığının tedavisinde etkinliği gösterilen ilk antiviral ajandır. Tüm herpes virüslerde inhibisyon yapar. Antiviral aktivite için spesifik bir viral enzim tarafından fosforilasyona ihtiyaç duyar. CMV'nin *UL97* geni tarafından kodlanan fosfotransferaz enzimi GCV'yi, GCV monofosfata dönüştürür (10, 19, 89). Ölümcül seyreden ve özellikle KİT alıcılarında sık görülen CMV pnömonisi ve diğer CMV hastalıklarında GCV ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir (17, 15). CMV hastalığı olan AIDS'li olgularda ve santral sinir sistemi enfeksiyonlarında GCV ile tedavi başarısı daha düşüktür (10,

17). Konjenital CMV enfeksiyonunda uzun süreli intravenöz (IV) GCV tedavisi bebeklerde işitme kaybını azaltmaktadır (90). GCV'nin başka bir klinik kullanım alanı da transplant alıcılarında CMV profilaksisidir. Vericisi seropozitif olan, seronegatif hastalarda profilaksi 100 güne kadar uzatılabilmektedir. CMV tanısına yönelik hızlı testler sayesinde preemptif profilaksi kavramı da gündeme gelmiştir. Semptomu olmayan fakat CMV enfeksiyonu saptanan hastaların preemptif profilaksisi, CMV hastalığını önlemede önemli bir faktördür. Antijenemi varlığında IV GCV uygulanması tercih edilmektedir (91). En önemli yan etkileri lökopeni, trombositopeni, myelotoksisite, spermatogenez bozukluğu olarak sıralanabilir (10, 89). CMV'de GCV'ye direnç, ilacın hücre içi fosforilasyonunu sağlayan UL97 protein kinaz geninde değişiklik veya nokta mutasyonu sonucu DNA polimeraz enziminde ortaya çıkan değişikliğe bağlıdır (10).

2.10.2.Foskarnet (fosfonofornik asit)

Pirofosfat analogu olan FOS güçlü olarak herpes virüs ailesini özellikle de CMV replikasyonunu inhibe etmektedir. Antiviral aktivite için fosforillenmeye ihtiyacı olmayan FOS, asiklovire ve GCV'ye dirençli CMV enfeksiyonlarında alternatif terapi olarak IV yoldan uygulanmaktadır (17). Viral DNA polimeraz geninin değişik noktasına bağlandıkları için FOS ile GCV arasında çapraz direnç görülmez (17). En önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Oral biyoyararlanımı düşüktür (%17), bu nedenle IV uygulanır. Uzun süre uygulandığında CMV DNA polimeraz geninde (*UL54*) mutasyon sonucu direnç gelişebilmektedir (11, 14, 86, 88). FOS'a direnç saptanması durumunda alternatif ilaç olarak CDV kullanılabilir (89).

2.10.3.Sidofovir

Diğer bir nükleozid analogu CDV, CMV DNA polimerazın yarışmalı inhibitörüdür. GCV ve CDV, aynı bölgeyi (*UL54*) hedef aldıkları için aralarında çapraz direnç görülebilmektedir (88, 11). Yarı ömrünün uzun olması sayesinde haftalık dozlar şeklinde uygulanabilmektedir. Doz ayarlaması ve rehidratasyon ile nefrotoksisitesi en aza indirilebilmektedir. Cidofovir CMV retiniti tedavisinde kullanılmaktadır (14).

Papillomavirüs, polyomavirüs, poxvirüs ve adenovirüs gibi başka DNA virüslerine de etkindir. Viral DNA polimeraz geninde mutasyon sonucu CDV'e direnç gelişmektedir (89). CDV'e dirençli olan izolatlarda genellikle GCV'e de direnç saptanırken FOS'e duyarlıdır (92).

2.10.4.Valgansiklovir

GCV'in oral emilimi artırılmış ön ilacıdır. AIDS hastalarında CMV retinitisi tedavisinde ve bazı solid organ (böbrek, kalp, pankreas) transplantasyon hastalarında CMV hastalığının profilaksisinde kullanılmaktadır (92).

2.10.5.Maribavir

Mevcut CMV ilaçlarının aksine DNA polimerazı hedef almayan MBV, farklı bir mekanizma ile nükleustan viral nükleokapsidlerin çıkışını sağlayan protein kinazı inhibe (UL97) eder. GCV ve CDV'e dirençli CMV izolatlarına karşı etkili olduğu gösterilmiştir (92).

2.10.6.Valasiklovir

Asiklovirin ön ilacı olan VACV, oral yoldan alındıktan sonra hızla asiklovire dönüşür. Emilimi asiklovire göre 3-5 kat daha fazladır. Böbrek transplant alıcılarında CMV hastalığının önlenmesi yanında oral ve genital herpes tedavisi, herpes zosterde ve KİT alıcılarında HSV reaktivasyonunun önlenmesinde de kullanılmaktadır. Trombositopenik purpura ve hemolitik üremik sendrom gibi yan etkileri nedeniyle, HIV pozitif hastalar ve immünsupresif olgularda kullanımı uygun değildir (92).

2.10.7.Fomivirsen

Virüs replikasyonunu ve virüsün konak hücreye adsorpsiyonunu baskılar. Diğer tedavilerin yanıt vermediği veya kontrendike olduğu CMV retinitinde intravitreal tedavi olarak önerilmektedir (92).

2.11.Korunma

CMV aşılıları içinde en eski olanları canlı attenüe virüs aşılılarıdır. Glikoprotein aşılıları, CMV geni eksprese eden canarypox rekombinant aşılıları, DNA plazmid aşılıları gibi pek çok yeni adaylar da gündemdedir (93). Canlı attenüe aşılıların en iyi bilineni Towne aşılısıdır. Towne aşılısı insan Fibroblast hücrelerinde pasajlanarak elde edilmektedir. Yapılan denemelerde bu aşılıya karşı hücreyel ve humoral immün yanıt elde edilmesine rağmen CMV enfeksiyonuna karşı koruyucu olmadığı gösterilmiştir (10, 17, 93). CMV gB proteinini içeren aşılılar da hücreyel ve nötralizan antikor yanıtı sağlamaktadır (10, 17). Canarypox virüsü ile hazırlanan rekombinant aşılılarda pp65 matriks antijeni ve yapısal olmayan en erken antijen kullanılmıştır. Bu antijenlerle yapılan çalışmalar

antikor ve T lenfosit yanıtının uyarılabildiğini göstermiştir (10, 16, 93). DNA plazmid aşılardan ilk deneneni pp65'i kodlayan plazmid aşısıdır. Ancak aşının etkinliği ve özellikle de güvenilirliği ile ilgili yeterli çalışmalar bulunmamaktadır (93).

Pasif immünoprofilaksi ile özellikle transplantasyon hastalarında risk grubunu oluşturan vericinin seropozitif, alıcının seronegatif olduğu bireylerde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu grupta gelişen CMV enfeksiyonu engellenememekle birlikte, asıl sorunu oluşturan CMV hastalığı insidansı azalmaktadır. Allojenik kemik iliği transplantasyonu (AKİT) yapılan olgularda pasif immünoprofilaksinin immünomodülatör etkisi ile GVHH'nı önlediği ileri sürülmüştür (15,17, 94).

Korunmada ayrıca konjenital CMV enfeksiyonu açısından yüksek riskli olan gebelerin belirlenmesi ve eğitilmesi, enfeksiyonun önlenmesinde en önemli adımlardan biridir. El yıkama, çocuk oyuncaklarının, mutfak malzemelerinin ve çevre yüzeylerinin temizliği ve çocukların tükürük ve idrarıyla temastan kaçınmak korunma önlemlerinin başında gelmektedir (95).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kayseri Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji Laboratuvarında yapıldı.

3.1.ÖRNEK ve HASTALAR

M. Kemal Dedeman Hematoloji-Onkoloji Hastanesi, Hematoloji bölümü poliklinik ve servislerinde takip edilen KİT yapılan hastalar çalışmaya dahil edildi. Hastalardan transplantasyon sonrası dönemde 15-100. günler arasında elde edilen toplam 174 kan örneğinde CMV antijeni ve CMV DNA araştırıldı.

Testlerin çalışılacağı gün EDTA' lı tüpe 2 ml kan alındı. Her hastadan 4 EDTA'lı tüpte kan örneği çalışıldı.

CMV antijenemi testi için CMV antijenemi kiti (CINA kit, Argene-Biosoft, Fransa) ve CMV DNA için CMV DNA PCR kiti (Rotor-Gene Q, Qiagen, Almanya) kullanıldı.

3.2.CMV Antijenemi Testi

CMV antijenemi testi, aktif enfeksiyonda CMV'nin matriks proteini pp65'i (ppUL83), lökositlerde (PNL) indirekt immüno Floresan yöntemiyle saptayan semikantitatif bir testtir (19, 73).

Kit içeriği:

- Anti-CMV pp65 primer antikor (reagent F)
- Fosfatbuffer solüsyonu (PBS)
- Evans mavisi (%1)
- Permeabilizasyon solüsyonu
- Sekonder antikor F(ab')₂ floresein izotiyosiyonat (FITC)
- Eritrosit lizis solüsyonu

- Fiksatif solüsyon
- Fetal calf serum
- Antikor dilüsyon solüsyonu
- Kaplama solüsyonu (mounting medium)

Kit içeriği dışında kullanılan malzemeler:

- Falkon tüpü (15 ml)
- Santrifüj (ısı kontrollü)
- Lam
- Etüv
- Floresan mikroskopu (Nikon E-600)
- Distile su
- Lamel

Test;

- 1- Lökositlerin elde edilmesi ve preparat hazırlanması
- 2- Fiksasyon ve permeabilizasyon
- 3- Boyama ve değerlendirme basamaklarını içermektedir.

Testte kullanılacak solüsyonların hazırlanışı

PBS; 1 kutu PBS tozu 1 litre distile su içerisinde çözülerek hazırlandı.

Eritrosit lizis solüsyonu; distile su ile 1/20 oranında dilüe edildi.

Fiksatif solüsyonu; distile su ile 1/5 oranında dilüe edildi.

Permeabilizasyon solüsyonu; distile su ile 1/5 oranında dilüe edildi.

Yıkama solüsyonu, PBS içerisine %1 oranında fetal calf serum katılarak hazırlandı.

3.2.1. Lökositlerin Elde Edilmesi ve Preparat Hazırlanması

Flakonların her birine 4'er ml hasta kanı koyuldu ve üzerlerine 8 ml eritrosit lizis solüsyonu eklendi. Pastör pipeti ile homojenize edilerek 5 dakika oda ısısında bekletildi. Isı kontrollü bir santrifüjde 4°C'de 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süre sonunda üstte kalan kısım atılıp çökeltinin üzerine tekrardan 8 ml eritrosit lizis solüsyonu eklendi. Aynı santrifüjde ikinci kez santrifüj edilerek üst kısım döküldü. Tüpün dibinde kalan lökosit çökeltisi PBS ile (0.5 ml – 2 ml) 100 µl' de 200.000 lökosit düşecek

şekilde süspansiyon edildi. Thoma lamına 10 µl koyularak, ışık mikroskopunda 40'lık objektifle bakıldı. Her sahada 20-25 lökosit görülen hastalar işleme alınırken, istenen hücre sayısına ulaşamayan örnekler çalışmaya alınmadı. Hazırlanan lökosit süspansiyonundan 75 µl sitosantrifüje yerleştirildi ve 4 dakika sitosantrifüj edildi.

3.2.2. Fiksasyon ve Permeabilizasyon

Sitosantrifüj edilen lamalar, kapalı ortamda kurutulmuş 10 dakika fiksasyon çözeltisinde bekletildi. Daha sonra 5 dakika yıkama solüsyonunda tutuldu. Ardından 5 dakika dilüe edilmiş permeabilizasyon çözeltisinde bekletildi. Son olarak tekrar yıkama solüsyonunda 5-10 dakika bekletildi. Hemen değerlendirilemeyecek olan lamalar, değerlendirilene kadar -80°C'ye kaldırıldı. Boyanacak olan lamaların kuyucuk kısmına dokunmadan preparatlar kurulandı.

3.2.3. Boyama ve Değerlendirme

Fikse edilen lamaların üzerine primer antikor (reagent F)'den 25 µl (1 damla) eklendi ve etüvde nemli bir ortamda 30 dakika inkübe edildi. 3 ayrı şaleye konulan PBS tamponu ile 1'er dakika 3 kez yıkandı. Lamaların kuyucuk kenarları dikkatlice kurutuldu. Kuyucuk kısmı tam kurutulmadan üzerlerine 25' er µl (1 damla) reagent H eklendi. 30 dakika etüvde bekletildi. Bir önceki basamakta olduğu gibi 3 ayrı şaledeki PBS tamponu ile 1'er dakika arayla 3 kez yıkandı. Lamalar musluk suyu konmuş şaleye birkaç kez daldırılıp çıkarıldı. Kuyucukların etrafı kurutma kağıdı ile kurutuldu. Kuyucukların üzerine 1 damla "mounting medium" damlatıp lamel ile kapatıldı. Floresan mikroskopta 40X objektifle bakılıp incelendi. FITCH ile elma yeşili renginde nükleer boyanmış polimorf çekirdekli lökositler sayıldı. Tüm alanda 1 ve üzeri sayıda elma yeşili renginde floresan veren hücre saptanan lamalar pozitif olarak değerlendirildi.

3.3. CMV DNA PCR Testi

CMV DNA izolasyonu DSP virüs/pathogen midi kit (QIASymphony, Qiagen, Almanya) kiti, DNA amplifikasyonu için aynı cihazın Artus CMV QS-RGQ Kit (QIASymphony, Qiagen, Almanya) test kiti prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Rotor-Gene Q 5plex (Qiagen, Almanya) cihazı ile RT-PCR yapıldı.

CMV DNA izolasyon ve amplifikasyon

İzolasyon kit içeriği:

- “Piercing Lid”
- “Reagent Cartridge CART”
- “Rack” (4 adet proteinaz K)
- “AVE buffer” (20 ml)
- “Carrier RNA”
- “AVE buffer” (2 ml)

İzolasyon cihazına prosedüre uygun olarak tarama işlemleri yapıldı. Örnekler 3500 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Primer tüpteki (EDTA’lı tam kan) örnekler cihaza ait bölüme yerleştirildi. Her 12 hasta için Carrier RNA, internal kontrol ve AVE buffer karışımı aşağıdaki gibi hazırlandı:

- 1590 µl “AVE buffer”
- 75 µl “Carrier RNA”
- 135 µl internal kontrol eklendi.

Bu karışım yeterli miktarda hasta sayısı için hazırlandıktan sonra cihazın örnek koyulan kısmına yerleştirildi ve çalışıldı. İzolasyon bittikten sonra yine aynı cihaza ait PCR modülüne aşağıda belirtilen Artus CMV QS-RGQ Kit test kiti içeriği cihazın talimatları doğrultusunda uygun bölmelere yerleştirildi.

Amplifikasyon kit içeriği:

- CMV RG master (300 µl)
- H₂O (1ml)
- CMV Mg-Sol (600 µl)
- CMV RG-IC (100 µl)
- CMV QS 1 (1x10⁴ cop/ µl) (200 µl)
- CMV QS 2 (1x10³ cop/ µl) (200 µl)
- CMV QS 3 (1x10² cop/ µl) (200 µl)
- CMV QS 4 (1x10¹ cop/ µl) (200 µl)

Nükleik asitler elde edildikten sonra, cihazda hazırlanan PCR karışımının üzerine nükleik asit eklendi ve PCR tüpleri uygun kapaklarla kapatıldı ve RT-PCR işlemi için Rotor-Gene Q 5 cihazına yerleştirildi. Aşağıda belirtilen PCR protokolü uygulandı:

- 95°C de 10 dakika
 - 95°C de 10 saniye
 - 65°C de 30 saniye
 - 72°C de 20 saniye
- } 45 döngü

PCR işlemi sonunda değerlendirme yapıldı. Örneklerin internal kontrolünün çalışıp çalışmadığı kontrol edildi ve eşik çizgisini aşmış olan örnek eğrileri pozitif kabul edildi ve kantitatif hasta sonuçları elde edildi. Analiz işlemi sırasında 1 kopya/ml: 1.64 IU/ml olarak hesaplandı.

3.4.İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler sonucunda, antijenemi pozitifliğine karşılık gelen viral yük düzeyi ise ROC analizi ile belirlendi. Alıcı işletim karakteristik eğrisi (ROC) analizinde antijenemi yönteminin pozitifliği esas alınarak (≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre), buna karşılık gelen plazma CMV-DNA yükü hesaplandı ve antijenemi testinin pozitifliği esas alınarak, CMV-DNA PCR testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPD) ve negatif (NPD) prediktif değerleri belirlendi. Bu değerlendirmelerde tüm CMV-DNA pozitiflikleri (130 IU /ml değerinin üstündeki sonuçlar) PCR pozitif olarak gruplandırıldı. İstatistiksel olarak p değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi. Verilerin analizi Turcosa Cloud (Turcosa Ltd Co. Türkiye) istatistik yazılımında gerçekleştirilmiştir.

4.BULGULAR

Bu çalışmada; KİT yapılan 156 hastadan elde edilen 174 kan örneğinde, CMV antijenemi ve CMV-DNA PCR yöntemi ile çalışılmış olup sonuçları karşılaştırılmıştır. Olguların 86 (%55)'sı erkek, 70 (%45)'i kadın KİT alıcılarından oluşmuştur ve yaş ortalaması 48.7'dir.

CMV antijenemi ve CMV-DNA testleri karşılaştırılarak elde edilen sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Örneklerin pp65 Antijenemi ve CMV-DNA Sonuçlarının Dağılımı

PCR	pp65 pozitif n (%)	pp65 negatif n (%)	Toplam n (%)
CMV-DNA pozitif CMV-DNA ≥ 130 IU/ml	33 (19.0)	20 (11.5)	53 (30.5)
CMV-DNA negatif	-	121 (69.5)	121 (69.5)
Toplam n (%)	33 (19.0)	141 (81.0)	174 (100.0)

Örneklerin %89 (154/174)'unda sonuçlar uyumludur; her iki test sonucu 121 (%69.5) örnekte negatif, 33 (%19) örnekte her iki test sonucu pozitif saptanmıştır.

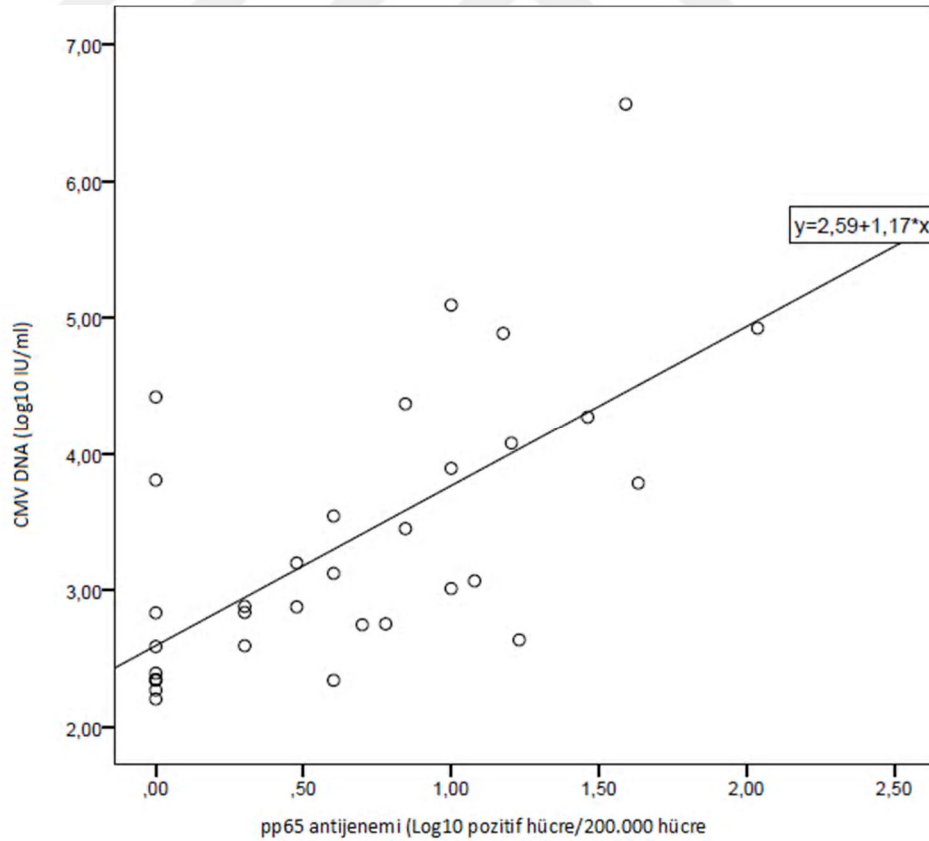
pp65 antijenemi testi negatif 20 hastaya ait örnekte (%11.5), CMV-DNA pozitif bulunmuştur. Antijenemi pozitif olup PCR ile negatif bulunan örnek yoktur.

Her iki test ile pozitif saptanan örnekler değerlendirildiğinde; plazma CMV-DNA IU/ml sayısı ile pp65 pozitif hücre sayısı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (r= 0.660). pp65 antijenemi ve CMV DNA pozitif bulunan örneklerin korelasyon eğrisi Şekil 3'te gösterilmiştir.

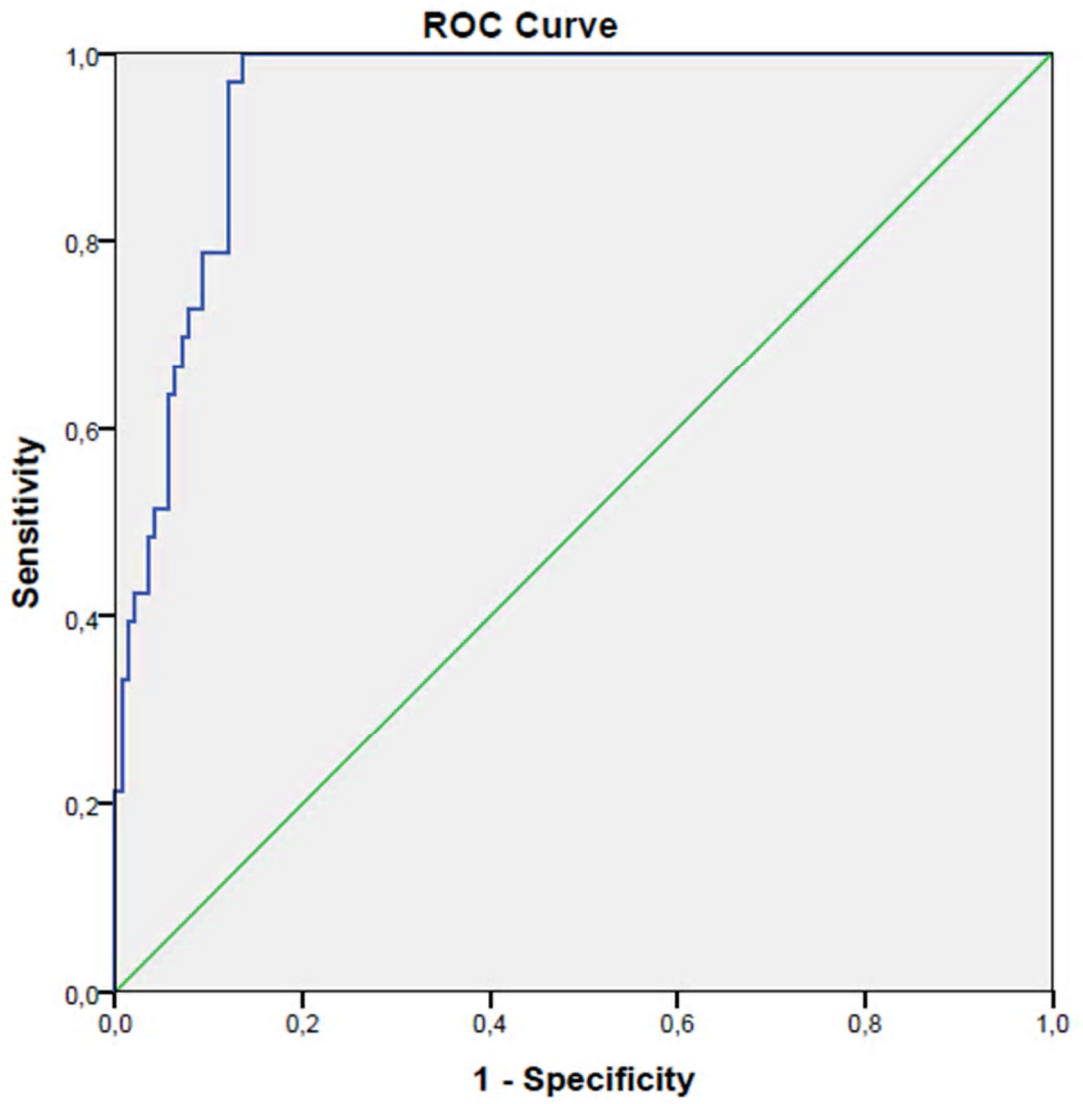
Antijenemi pozitifliğine karşılık gelen CMV-DNA değerini belirlemek amacıyla, pp65 antijenemi pozitifliği (≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre) esas alınarak antijenemi pozitifliğine karşılık gelen CMV-DNA düzeyi 152 IU/ml olarak bulundu. ROC analizine göre bulunan 152 IU/ml eşik değerinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %87.1, PPD %65.4 ve NPD %100'dür. ROC analiz eğrisi Şekil 4'te gösterilmiştir.

Antijenemi negatif, CMV-DNA pozitif 20 örneğin tamamının viral yükü 152 IU/ml'den fazla idi.

Antijenemi testinin pozitifliği esas alındığında, CMV-DNA PCR testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %85.8, PPD %62.3 ve NPD %100 olarak saptanmıştır. Güven aralığının %90.5-97.6 olduğu AUC değeri, %94.9 olarak bulunmuş olup antijenemi testinin genel tanı performansı istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$).



Şekil 3. pp65 antijenemi ve CMV-DNA pozitif bulunan örneklerin korelasyon eğrisi.



Şekil 4. ROC analizi eğrisi.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

CMV, bağışıklık sistemi normal bireylerde nadiren semptomatik hastalık oluşturmaya karşın, bağışıklık sistemi baskılanmış solid organ, KİT alıcılarında ve AIDS hastalarında önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasındadır. CMV' nin erken saptanması, ölüm ve ciddi komplikasyonların önlenmesi ve etkili antiviral tedaviye başlanması için gereklidir (10). CMV enfeksiyonu tanısında serolojik testler, kültür yöntemleri, CMV antijenemi testi ve nükleik asit saptama yöntemleri uygulanmaktadır. İmmün yetmezlikli hastalarda serolojik yanıtın yetersiz oluşu, virüs kültürünün standardize olmaması, emek yoğun ve zaman alıcı olması ve duyarlılığının düşük oluşu nedeniyle CMV enfeksiyonu tanısında antijenemi ve viral nükleik asit testleri önem kazanmıştır (10). Düşük viremi durumlarında CMV antijeni saptanamayabilirken, CMV DNA'nın gösterildiği çalışmalar mevcuttur. Transplantasyondan sonra nötropenik olan hastalarda CMV antijenemi testi negatif sonuç verebilir. Bu durumda CMV DNA'nın PCR ile çalışılması önerilmektedir (59).

Gerek testler arası değişkenler, gerekse hastalarda kullanılan tanı, izlem ve tedavi farklılıkları, KİT alıcılarında CMV enfeksiyonu için klinik kararlarda kullanılacak viral eşik değerler konusunda fikir birliği oluşmasını güçleştirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2010'da CMV-DNA uluslararası standardının geliştirilmesi, ticari testler arası değişkenliklerin azaltılması için önemli bir basamak olmuştur. Ticari CMV DNA kitleri DSÖ standardına göre kalibre edilmelidir (96). Ancak halen her merkezin kendi koşullarına uygun eşik değerleri belirlemesi ve hasta izleminde test değişikliği yapılmaması önerilmektedir. Transplantasyon yapılan hastalarda CMV antijenemi ve CMV DNA testlerinin birlikte çalışıldığı birçok çalışma mevcuttur. KİT alıcılarında yapılan çalışmalarda ≥ 1 antijen pozitifliği eşik değeri olarak kabul edildiği için çalışmamızda 1 hücre pozitifliğine denk gelen CMV DNA viral yükü 152 IU/ml olarak bulunmuştur.

Lee ve ark.'nın (97) , 67 KİT hastasından elde edilen 254 plazma örneğinde yaptıkları çalışmada; 82 örnekte (% 32.3) pp65 antijenemi ile 112 örnekte (% 44.1) in-house PCR ile, 170 örnekte (% 66.9) LC PCR (lightcycler PCR) ile pozitiflik saptanmıştır. Sonuç olarak RT-PCR metodunun, diğer iki metoda göre daha duyarlı olduğu gösterilmiştir.

Ülkemizde, KİT hastalarından alınan 170 plazma örneği ile yapılan çalışmada; pp65 antijenemi ile 58 örnek, CMV R-gene PCR ile 85 ve LightCycler CMV PCR 75 örnek pozitif bulunmuştur (98). CMV PCR sonuçları ile antijenemi testinin sonuçları arasındaki korelasyon katsayısı $r=0.471$ ve $r=0.435$ ($p<0.001$) olarak tespit edilmiştir. ROC analizi sonucunda antijenemi testinde 1 hücre pozitifliğine denk gelen eşik değerleri sırasıyla; 1543.5 kopya/ml (duyarlılık 72.4%, özgüllük 90.2%) ve 423 kopya/ml (duyarlılık 70.7%, özgüllük 79.5%) olarak bulunmuştur.

Gimeno ve ark.'nın (99) AKİT hastalarından elde edilen 1156 örnekte CMV antijeni ve RT-PCR ile CMV DNA araştırdıkları çalışmada; 176 (15.2%) örnek CMV DNA ve pp65 pozitif; 201 (17.3%) örnek CMV DNA pozitif, pp65 negatif; 775 (67.0%) örnek her iki test sonucunda negatif bulunmuştur. Dört (0.3%) örnek ise pp65 antijenemi pozitif, CMV DNA negatif olarak saptanmıştır. İki analiz arasındaki uyum % 82.2 olarak bulunmuştur. CMV DNA seviyeleri, pp65-pozitif hücrelerin sayısı ile önemli ölçüde korelasyon göstermiştir ($r = 0.501$, $p < 0.001$). ROC analizi kullanılarak ≥ 1 antijen pozitif hücre /200.000'nin karşılık geldiği CMV DNA viral yükü, 288 kopya/ml olarak hesaplanmıştır (duyarlılık % 100; özgüllük,% 91.2; NPV % 100; PPV % 72.7).

Kore'de 2004-2005 yılında yapılan çalışmada ; 131 KİT hastasının (68 erkek ve 63 kadın) 555 örneğinde CMV DNA ve pp65 antijenemi testi karşılaştırmalı olarak çalışılmıştır. CMV DNA PCR ve pp65 antijenemi pozitif örnek sayısı 66 (%11.8), CMV DNA PCR ve pp65 antijenemi negatif örnek sayısı 394 (%70.9) olarak bulunmuştur (100). Çalışmada CMV DNA PCR pozitif, pp65 antijenemi negatif örnek sayısı 18 (%3.2); pp65 antijenemi pozitif olup CMV DNA PCR negatif olan örnek sayısı 77 (%13.8) olup, test sonuçları %82.9 (460/555) oranında uyumlu bulunmuştur. Her iki test ile pozitif saptanan CMV-DNA ile pp65 antijenemi arasındaki korelasyon katsayısı $r=0.569$ ($p<0.0001$) olarak bulunmuştur. ROC analizi sonucunda antijenemi testinde 1 hücre pozitifliğine denk gelen eşik değeri 19.226 kopya/ml (duyarlılık %80, özgüllük %41.7). Bizim yaptığımız çalışmada yapılan ROC analizi sonucunda, antijenemi

testinde ≥ 1 pozitif hücre/200.000 lökositte denk gelen eşik değeri 152 IU/ml bulundu. Her iki çalışmanın viral yük eşik değerleri kıyaslandığında farkın çok büyük olduğu dikkatimizi çekmiştir. DSÖ, CMV DNA standardını ilk olarak 2010 yılında piyasaya sürmüştür. Bu nedenle 2010 yılından önce çalışılan CMV DNA testleri arasında viral yük kantitasyonunda büyük farklılıkların olması muhtemeldir.

Marchetti ve ark. (101) solid organ ve KİT alıcılarından elde ettikleri 793 örnekte CMV DNA ve pp65 antijenemi testi çalışmıştır. Her iki testin pozitif olduğu örnek sayısı 53/793 (%6.7) iken, 577 (%72.7) örnekte ise hem CMV DNA hem de CMV pp65 antijenemi testi negatif bulunmuştur. Uyumsuz olarak sonuçlanan örnek sayısı 163 (%20.6)'tür. Testler arasındaki korelasyon nispeten zayıf çıkmıştır ($r=0.460$, $p<0.0001$). ROC analizi sonucunda antijenemi pozitifliğine denk gelen eşik değeri solid organ hastalarında 3000 kopya/ml, KİT hastalarında 1000 kopya/ml bulunmuştur.

Solid organ transplant alıcılarından elde edilen 251 örnekte CMV DNA ve pp65 antijenemi testinin birlikte yapıldığı çalışmada, CMV DNA kantitasyonu lökositte yapılmış olup; ROC analizi ile antijenemi testinde 1 hücre pozitifliğine denk gelen eşik değeri ≥ 130 kopya/ml olarak bulunmuştur (102).

Ülkemizde Özkarataş ve ark. (103) solid organ transplant alıcılarından elde edilen 217 örnekte yaptıkları çalışmada, CMV pp65 antijenemi testi ve plazmada gerçek zamanlı CMV DNA PCR yöntemiyle araştırılmış ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Her iki test ile pozitif saptanan örnekler değerlendirildiğinde; testler arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r= 0.785$). Araştırmacılar, ROC analizi ile plazmada 205 kopya/ml CMV viral yükünün, ≥ 1 antijen pozitif hücre/200.000 lökositte karşılık geldiğini göstermişlerdir (duyarlılık: %91.7, özgüllük: %90.3). Yaptığımız çalışmada CMV DNA testi, Özkarataş ve ark.'nın çalışmasındaki kit ile aynı marka olup, antijenemi testinin pozitifliği esas alındığında eşik seviyesi 152 IU (92 kopya/mL) olarak bulundu (duyarlılık %100, özgüllük %85.8, PPD %62.3 ve NPD %100). Her iki çalışmanın sonuçlarının benzer olduğu görülmektedir.

Dávila ve ark.'nın (104) karaciğer transplant alıcılarından elde edilen 164 örnek ile yaptığı çalışmada; CMV DNA PCR sonuçları ile antijenemi sonuçları karşılaştırılmıştır. Antijenemi testinde ≥ 10 pozitif hücre/200.000 lökositte karşılık gelen CMV DNA viral yükü ROC analizi kullanılarak 1330 kopya/ml (duyarlılık %58, özgüllük %98) bulunmuştur. Çalışılan testlerin sonuçlarına göre uyum oranı %78'dir.

Yaptığımız çalışmada, 156 KİT hastasının 174 örneği CMV DNA ve pp65 antijenemi testi ile çalışılmıştır. Her iki testin pozitif olduğu örnek sayısı 33 (%19), negatif örnek sayısı 121 (%69.5), CMV-DNA'nın pozitif, pp65 antijenemi sonucunun negatif olduğu örnek sayısı 20 (%11.5) iken antijeneminin pozitif olup PCR ile negatif bulunan örnek yoktur. Test sonuçlarının uyum oranı %89 (154/174)'dur. Her iki test ile pozitif saptanan örnekler değerlendirildiğinde; testler arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r= 0.660$, $p <0.001$). Yapılan ROC analizi sonucunda, antijenemi testinde 1 hücre pozitifliğine denk gelen eşik değeri 152 IU/ml'dir (duyarlılığı %100, özgüllüğü %87.1, PPD %65.4 ve NPD %100).

Sonuç olarak; bu çalışmada KİT yapılan hastaların pp65 antijenemi ve CMV DNA sonuçları karşılaştırılmış olup, pp65 antijenemi testinde 1 pozitif hücre/200.000 hücreye karşılık gelen CMV DNA PCR testi değeri 152 IU/ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, hasta izleminde testler arasında geçiş yapıldığında ve düşük viral yük sonuçlarının klinik açıdan yorumlanmasında yardımcı olacaktır. Literatür incelendiğinde farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda 1 hücre pozitifliğine denk gelen DNA düzeyinin farklı olduğu görülmüştür. Bu nedenle her merkezin çalıştığı testin eşik değerini belirlemesi gerektiği kanaatine varıldı.

6.KAYNAKLAR

1. Hodinka RL. Human Cytomegalovirus, In: Manual of Clinical Microbiology (11th ed), Vol 2, Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Landry ML, Funke G, Richter SS, Warnock DW (Eds), ASM press, Washington D.C, 2016: 1718-1736
2. Us T. Cytomegalovirüs enfeksiyonları, İn: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji, Cilt 2, Topçu G, Söyletir M (Eds), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2017: 1191-1197
3. Razonable RR, Emery VC. Management of CMV infection and disease in transplant patients. *Herpes* 2004; 11: 77-86
4. Piiparinen H, Höckerstedt K, Grönhagen-Riska C, Lautenschlager I. Comparison of two quantitative CMV PCR tests, Cobas Amplicor CMV Monitor and Taqman assay, and pp65-antigenemia assay in the determination of viral loads from peripheral blood of organ transplant patients. *J Clin Virol* 2004; 30(3): 258-266
5. Alice T, Enrietto M, Pittaluga F, et al. Quantitation of cytomegalovirus DNA by real-time polymerase chain reaction in peripheral blood specimens of patients with solid organ transplants: Comparison with end-point PCR and pp65 antigen test. *J Med Virol* 2006; 78(7): 915-922
6. Gimeno C, Solano C, Latorre JC, Hernandez-Boluda JC, Clari MA, Remigia MJ, Furio S, Calabuig M, Tormo N, Navarro D. Quantification of DNA in plasma by an automated real-time PCR assay (cytomegalovirus PCR kit) for surveillance of active cytomegalovirus infection and guidance of preemptive therapy for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2008; 46(10): 3311-3318
7. Demmler GJ. Cytomegalovirus. In: Gershon AA, Hotez PJ, Ketz SL (eds). *Krugman's Infections Diseases of Children*. 11th ed. Philadelphia, Mosby 2004: p47-65

8. Ho M. The history of cytomegalovirus and its disease. *Med Microbiol Immunol* 2008; 197: 65-73
9. Riley HD Jr. History of the cytomegalovirus. *South Med J* 1997; 90: 184-90
10. Britt WJ, Alford CA. Cytomegalovirus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds), *Fields Virology*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996: 2493-2523
11. Çolak D, Mutlu D. Herpesviruslar. In: Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (eds), *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Güneş Kitabevi, Ankara, 2004:113-144
12. Ustaçelebi S. CMV 'un özellikleri ve epidemiyolojisi. 1.Ulusal CMV Sempozyumu Tanı ve Tedavi Yaklaşımları: Sorunlar ve Çözümleri kitabı, s 9-18, 2001, Antalya
13. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Britto MMM. Birth prevalence and natural history of congenital cytomegalovirus (CMV) infection in a highly seroimmune population. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 522-8
14. St. George K, Rowe DT, Rinaldo CR. Cytomegalovirus, varicella-zoster virus and Epstein-Barr virus. In: Specter S, Hodinka RL, Young SA (eds), *Cinical Virology Manual*. 3rd ed. Washington, ASM Press 2000 ; p410-449
15. Günhan C. Cytomegalovirüs Enfeksiyonları, In: Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji, Cilt 2, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2002: p1191-1197
16. Serter D. Cytomegalovirus (İnsan Herpes Virusu 5). In: *Virus, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları kitabı*. Nobel Tıp Kitapevleri 1997: 141-145
17. Bilgiç A, Özacar T. İnsan Sitomegalovirus kitabı: Ustaçelebi S (ed), *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, Ankara 1999: 835-843
18. Web_1. (2018). Renal Fellow Network web site.
<http://renalfellow.blogspot.com/2009/12/link-between-cmv-status-epo.html>
(09.08.2018)
19. Crumpacker CS. Cytomegalovirus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and Practise of Infectious Diseases*. 5th ed. Churchill Livingstone Philadelphia 2000: 1586-1599
20. Schierling K, Buser C, Mertens T, Winkler M. Human cytomegalovirus tegument protein ppUL35 is important for viral replication and particle formation. *J Virol* 2005; 79: 3084-3096

21. Liu F, Zhou ZH. Comparative virion structure of human herpesviruses. In: Arvin AM, Mocarski ES, Moore P, et al. *Human Herpesviruses: Biology, Therapy and Immunoprophylaxis*. Cambridge, Cambridge Press 2006: p27-43
22. Knipe D, Howley P. *Fields Virology* (2nd ed). Lippincott-Williams and Wilkins, Philadelphia 2007: p2701-2757
23. Mocarski ES, Shenk T, Pass RF. Cytomegaloviruses. In: Knipe DM (eds), *Fields Virology*. New York, Lippincott-Williams and Wilkins 2006: p2701–2757
24. Lai L, Britt WJ. The interaction between the major capsid protein and the smallest capsid protein of human cytomegalovirus is dependent on two linear sequences in the smallest capsid protein. *J Virol* 2003; 77(4): 2730-2735
25. Compton T. Receptors and immune sensors: the complex entry path of human cytomegalovirus. *Trends Cell Biol* 2004; 14(1): 5-8
26. Mocarsky ES. Cytomegaloviruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds), *Fields Virology*. Lippincott-Roven Publishers, Philadelphia 1996; 2447-2492
27. Satılmış A, Güra A, Ongun H. CMV seroconversion in pregnant and the incidence of congenital CMV infection. *Turkish J Pediatr* 2007; 49: 30-6
28. Kaleli B, Kaleli İ, Aktan E, Yurdakul B, Akşit F. Gebelerde rubella ve sitomegalovirus enfeksiyonu. *İnfeks Derg* 1997; 11: 325-327
29. Yücel A, Bozdayı G, İmir T. Seroprevalence of TORCH antibodies among pregnant women in Gazi University Hospital. *İnfek Derg* 2002; 16: 279-283
30. Hızıl S, Parker S, Önde U. Seroprevalence of cytomegalovirus infection among children and females in Ankara. *Pediatrics Int* 1999; 41: 506-9
31. Wreghitt TG, Teare EL, Sule O, Devi R, Rice P. Cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1603-6
32. Hanshaw JB. Cytomegalovirus infections. *Pediatr Rev* 1995; 16: 43-9
33. Jones CA. Congenital cytomegalovirus infection. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2003; 33: 65-93
34. Kandemir Ö. Herpes Virüs Enfeksiyonları. In: Ulusoy S, Leblebicioğlu H (eds), *Viral Enfeksiyonlar kitabı*. Bilimsel Tıp Yayınevi 2011: 181-207
35. Slobedman B, Mocarski ES. Quantitative analysis of latent human cytomegalovirus. *J Virol* 1999; 73: 4806-4812

36. Soderberg C, Larsson S, Bergstedt-Lindqvist S, Moller E. Definition of a subset of human peripheral blood mononuclear cells that are permissive to human cytomegalovirus infection. *J Virol* 1993; 67: 3166-3175
37. Mendelson M, Monard S, Sissons P, Sinclair J. Detection of endogenous human cytomegalovirus in CD34+ bone marrow progenitors. *J Gen Virol* 1996; 77: 3099-3102
38. Senechal B, Boruchov AM, Reagan JL, Hart DN, Young JW. Infection of mature monocyte-derived dendritic cells with human cytomegalovirus inhibits stimulation of T-cell proliferation via the release of soluble CD83. *Blood* 2004; 103: 4207-4215
39. Grefte AM, van der Giessen W, van Son TH. Circulating cytomegalovirus (CMV)-infected endothelial cells in patients with an active CMV infection. *J Infect Dis* 1993; 167: 270-277
40. Sinzger C, Grefte CA, Plachter B, Gouw As, The TH, Jahn G. Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues. *J Gen Virol* 1995; 76: 741-750
41. Sissons JG, Bain M, Wills MR. Latency and reactivation of human cytomegalovirus. *J Infect* 2002; 44: 73-77
42. Abbas AK, Lichtman AH. Temel immünooloji immün sistemin işlevleri ve bozuklukları. In: Camcıoğlu Y, Deniz G (eds), *Temel İmmünoloji*. Güneş Tıp Yayınevi, Ankara, 2015: 127-130
43. Hantz S, Garnier-Geoffroy F, Mazon MC, et al. Drug resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(12): 2628-40
44. Akan E. Genel ve Özel Viroloji (2.baskı), Desen Matbaası, Ankara: 1991: 187-195
45. Halwachs-Baumann G, Wilders-Trusching M, Enzinger G, Eibi M, Linkesch W, Dornbusch HJ, Santer BL, Marth E, Kessler HH. CMV diagnosis in renal and bone marrow transplant recipients: The impact of molecular assays. *J Clin Virol* 2001; 20: 49-57
46. Baldanti F, Sarasini A, Furione M, Gatti M, Comolli G, Revello MG, Gerna G. Coinfections of the immunocompromised but not the immunocompetant hosts by multiple HCMV strains. *Arch Virol* 1998; 143: 1701-1709

47. Çolak D, Mutlu D. Herpes Grubu Viruslar. In: Us AD, Ergünay K (eds), Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji kitabı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2012: 509-552
48. Emery VC, Asher K, Sanjuan CJ. Importance of the cytomegalovirus seropositive recipient as a contributor to disease burden after solid organ transplantation. *J Clin Virol* 2012; 54(2): 125-129
49. Sissons JGP, Carmichael AJ, McKinney N, Sinclair JH, Wills MR. Human CMV and immunopathology. *Springer Seminars in immunopathology* 2002; 24: 169-185
50. Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, et al. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics* 1999; 104(1): 55-60
51. Ornoy A, av-Citrin O. Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy. *Reprod Toxicol* 2006; 21: 399-409
52. Sia IG, Patel R. New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipient. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 83-121
53. Van der Bij W, Schirm J, Torensma R, et al. Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. *J Clin Microbiol* 1988; 26(12): 2531-2535
54. Gerna G, Revello MG, Percivalle E, Zavattoni M, Parea M, Battaglia M. Quantification of human cytomegalovirus viremia by using monoclonal antibodies to different viral proteins. *J Clin Microbiol* 1990; 28(12): 2681-2688
55. Olive DM, Simsek M, Al-Mufti S. Polymerase chain reaction assay for detection of human cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1989; 27(12): 1238-1242
56. Kusne S, Shapiro R, Fung J. Prevention and treatment of cytomegalovirus infection in organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 1999; 1(3): 187-203
57. Halfon P, Berger P, Khiri H, et al. Algorithm based on CMV kinetics DNA viral load for preemptive therapy initiation after hematopoietic cell transplantation. *J Med Virol* 2011; 83: 490-495
58. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clinical and Applied Immunology Reviews* 2002; 2: 155-167
59. Boeckh M, Boivin G. Quantitation of Cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 533-554

60. The TH, van der Ploeg M, van den Berg AP, et al. Direct detection of cytomegalovirus in peripheral blood leukocytes a review of the antigenemia assay and polymerase chain reaction. *Transplantation* 1992; 54(2): 193-198
61. Shibata D, Martin WJ, Appleman MD, et al. Detection of cytomegalovirus DNA in peripheral blood of patients with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis.* 1988; 158: 1185-1192
62. Spector SA, Merrill R, Wolf D, et al. Detection of human cytomegalovirus in plasma of AIDS patients during acute visceral disease by DNA amplification. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2359-2365
63. Hodinka RL. The clinical utility of viral quantitation using molecular methods. *Clin Diagn Virol* 1998; 10(1): 25-47
64. Mazzulli T, Drew LW, Yen-Lieberman B, et al. Multicenter comparison of the digene; hybrid capture CMV DNA assay (version 2.0), the pp65 antigenemia assay, and cell culture for detection of cytomegalovirus viremia. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 958-963
65. Schirm J, Kooistra A, van Son WJ, et al. Comparison of the Murex Hybrid Capture CMV DNA (v2.0) assay and the pp65 CMV antigenemia test for the detection and quantitation of CMV in blood samples from immunocompromised patients. *J Clin Virol* 1999; 14: 153-165
66. Gökahmetoğlu S. Transplant alıcılarında görülen herpes virüs enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında güncel durum, 2.Ulusal Viroloji Günleri Kongresi Bildiri Kitabı, s 49, 22-24 Mart 2018, İzmir
67. Wattanamano P, Clayton JL, Kopicko JJ, et al. Comparison of three assays for cytomegalovirus detection in AIDS patients at risk for retinitis. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 727-732
68. Zipeto D, Baldanti F, Zella D, et al. Quantification of human cytomegalovirus DNA in peripheral blood polymorphonuclear leukocytes of immunocompromised patients by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 1993; 44: 45-56
69. Blok MJ, Goossens VJ, Vanherle SJ, et al. Diagnostic value of monitoring human cytomegalovirus late pp67 mRNA expression in renal-allograft recipients by nucleic acid sequence-based amplification. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1341-1346
70. Zhang F, Tetali S, Wang XP, et al. Detection of human cytomegalovirus pp67 late gene transcripts in cerebrospinal fluid of human immunodeficiency virus type1-

- infected patients by nucleic acid sequence-based amplification. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1920-1925
71. Ehrnst A. The clinical relevance of different laboratory tests in CMV diagnosis. *Scand J Infect Dis Suppl* 1996; 100: 64-71
 72. Gleaves CA, Smits TF, Shuster EA, Pearson GR. Comparison of standard tube and shell vial culture techniques for the detection of cytomegalovirus in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1985; 21(2): 217-221
 73. Hodinka RL. Serological tests in clinical virology. In: Lennette EH, Smith TR (eds), *Laboratory diagnosis of viral infections*. 3rd ed. Marcel Dekker inc, New York, 1999: p195-211
 74. Grangeot-Keros L, Cointe D. Diagnosis and prognostic markers of HCMV infection. *J Clin Virol* 2001; 21: 213-221
 75. Greijer AE, Van de Crommert JMG, Stevens SJC, et al. Molecular fine-specificity analysis of antibody response to human cytomegalovirus and design of novel synthetic-peptide-based serodiagnostic assays. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 179-188
 76. Landini MP, Mach M. Searching for human cytomegalovirus: is it useful? When and how. *Scand J Infect Dis* 1995; 99: 18-23
 77. Kettering JD, Schmidt NJ, Gallo D, et al. Anticomplement immunofluorescence test for antibodies to human cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1977; 6: 627-632
 78. Rao N, Waruszewski DT, Armstrong JA, et al. Evaluation of anti-complementary immunofluorescence test in cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1977; 6: 633-638
 79. Mayo DR, Brennan T, Sirpenski SP, et al. Cytomegalovirus antibody detection by three commercially available assays and complement fixation. *Diag Microbiol Infect Dis* 1985; 3: 455-459
 80. McHugh TM, Casavant CH, Wilber JC, et al. Comparison of six methods for the detection of antibody to cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1985; 722: 1014-1019
 81. Beckwith DG, Halstead DC, Alpaugh K, et al. Comparison of a latex agglutination test with five other methods for determining the presence of antibody against cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 328-331
 82. Hursh DA, Abbot AD, Sun R, et al. Evaluation of a latex particle agglutination assay for the detection of cytomegalovirus antibody in patient serum. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2878-2879

83. Cengiz AT. Tıp ve Dis Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Güneş Matbaacılık, Ankara, 2004: 928-934
84. Arnold H. Betaherpesviruses: cytomegalovirus, human herpesviruses 6 and 7. *Topley Wilson's Microbiology & Microbial Infections* 2005; 10: 520-527
85. Arpacı E, Beşışık SK. Hematopoetik kök hücre nakli ve sitomegalovirüs enfeksiyonu: Değişen klinik, tanı ve tedavi. *İst Tıp Fak Derg* 2007; 70(2): 51-55
86. Mercorelli B, Sinigalia E, Loregian A, Palu G. Human cytomegalovirus DNA replication: antiviral targets and drugs. *Rev Med Virol* 2008; 18: 177-210
87. Snyderman DR. The case for cytomegalovirus prophylaxis in solid organ transplantation. *Rev Med Virol* 2006; 16: 289-295
88. Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G, Lembo D. The human cytomegalovirus. *Pharmacology and Therapeutics* 2003; 98: 269-97
89. Aktaş F. Antiviral ilaçlar. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds), *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabı*, 1. cilt. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2002: 282-285
90. Hayden FG. Antiviral drugs (Other than antiretrovirals). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. New York, Churchill Livingstone 2005: 514-551
91. Jacobson MA. Treatment of cytomegalovirus retinitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1997; 337: 105
92. Sayiner AA. Antiviral Ajanlar. In: Us AD, Ergünay K (eds), *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji kitabı*. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2012: 635-655
93. Velipaşaoğlu S. CMV enfeksiyonlarından korunmada aktif bağışıklama. *I.Ulusal CMV Simpozyumu Tanı ve Tedavi Yaklaşımları: Sorunlar ve Çözümleri Kitabı*, s84-87, 2001, Antalya
94. Gale RP, Winston D. Intravenous immunoglobulin in bone marrow transplantation. *Cancer* 1991; 68: 1451-1453
95. Brown HL, Abernathy MP. Cytomegalovirus infection. *Semin Perinatol* 1998; 22(4): 260-266
96. Fryer JF, Heath AB, Anderson R, Minor PD and the collaborative study group. Collaborative study to evaluate the proposed 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus (HCMV) for nucleic acid amplification (NAT)-based assays. *WHO ECBS Report* 2010; WHO/BS/10.2138

97. Lee SY, Choi BS, Kim SS, Choi SM, Shin WS, Lee JS. Comparison of realtime PCR methods and pp65 antigenemi assay to detect cytomegalovirus reactivation in hematopoietic stem cell transplantation. *Infection and Chemotherapy* 2008; 40(3): 167-169
98. Çolak D, Kazık M, Mutlu D, Uygun V, Karagül A, Hazar V. Assesment of cytomegalovirus (CMV) load in hematopoietic stem cell transplant recipients by CMV antigenemia and two different real-time PCR assays. *J Clin Virol* 2009; 46 (1): 47
99. Gimeno C, Solano C, Latorre J.C, et al. Quantification of DNA in plasma by an automated real-time PCR assay (cytomegalovirus PCR kit) for surveillance of active cytomegalovirus infection and guidance of preemptive therapy for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3311-3318
100. Choi SM, Lee DG, Lim J, Park HS, Choi JH, Yoo JH, et al. Comparison of quantitative cytomegalovirus real-time PCR in whole blood and pp65 antigenemia assay: clinical utility of CMV real-time PCR in hematopoietic stem cell transplant recipient. *J Korean Med Sci* 2009; 24: 571-578
101. Marchetti S, Santangelo R, Manzara S, D'onghia S, Fadda G, Cattani P. Comparison of real-time PCR and pp65 antigen assays for monitoring the development of cytomegalovirus disease in recipients of solid organ and bone marrow transplants. *New Microbiol* 2011;34(2): 157-164
102. Mengoli C, Cusinato R, Biasolo MA, Cesaro S, Parolin C, Palu G. Assessment of CMV load in solid organ transplant recipients by pp65 antigenemia and real-time quantitative DNA PCR assay: correlation with pp67 RNA detection. *J Med Virol* 2004; 74: 78-84
103. Özkarataş E, Özbek A, Oğuz V, Sayiner A. Solid organ nakli alıcılarında CMV antijenemi testi ve CMV-DNA PCR sonuçlarının karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50: 44-52
104. Martin-Davila P, Fortun J, Gutierrez C, Marti-Baelda P, Candelas A, Honrubia A, Barcena R, Martinez A, Puente A, De Vicente E, Moreno S. Analysis of a quantitative PCR assay for CMV infection in liver transplant recipients: an intent to find the optimal cut-off value. *J Clin Virol* 2005; 3: 138-144



T.C. *Tıbbi Mikrobiyoloji*
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 96681246/
Konu :

30.12.2013

Sayın *Prof. Dr. Selma Cökmezoğlu*

Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 20.12.2013 tarihinde yapılan toplantıda çalışmanız ile ilgili alınan Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

[Signature]
Prof. Dr. **Ruhan DÜŞÜNSEL**
Etik Kurul Başkanı

Eki: adet

ETİK KURULUN ADI	: ERCİYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
AÇIK ADRES	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Denenliği Mahallesi/KAYSERİ
TELEFON	: 0 352 437 49 10 - 11
FAKS	: 0 352 437 52 85
E-POSTA	: byancar@erciyes.edu.tr


BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Cytomegalovirus (CMV) Antijeni ve CMV DNA'nın Araştırılması			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÖNVAN/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Selma Gökahmetoğlu			
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖRÜN ÖNVAN/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Selma Gökahmetoğlu			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı/Kayseri			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ				
	ARAŞTIRMA FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
FAZ 3		<input type="checkbox"/>			
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
	Diğer İse Belirtiniz	<input checked="" type="checkbox"/>	Yüksek Lisans Tezi		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOKMERKEZ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	DİLİ		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFERFORMU	<input type="checkbox"/>
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>
	ILAN	<input type="checkbox"/>
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>
SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	

ASLI GİRİDİR

Bahri YANCAR
Fakülte Şefi

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ			ASLI GİBİDİR T.C.  Bahri YANCAR Fakülte Şefi
	DİĞER			

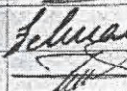
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2013/781	Karar Tarihi : 20.12.2013
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul Üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
---------------	--

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI : Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı / Adı Soyadı Etik Üyeliliği	Uzmanlık Dali	Kurumu	Cinsiyeti	İlişkî (*)	Kabulün (**)	İmza
Prof. Dr. Ruhan DÜŞÜNSEL	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Karamehmet YILDIZ	Anest. ve Rean.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Selih KUK	Tıbbi Parazitoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kemal DENİZ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Musa KARAKÜKÇÜ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hüseyin ARINÇ	Kardiyoloji	Keaysen Eğitim Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Erdem KILIÇ	Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi	E.Ü. Diş Hek. Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aydın ÜNAL	İç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Afra YILDIRIM	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Zafar SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Ferhan ELMALI	Biyo-statistik	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Av. Zafer Tuğrul SARIASLAN	Avukat	Hukuk Müşaviri	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Serkah KARACA	Sivil Üye	Öğretmen	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> X	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU (KİT)YAPILAN HASTALARDA CYTOMEGALOVİRÜS (CMV) ANTİJENİ VE CMV DNA'NIN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

% **11**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **5**
İNTERNET
KAYNAKLARI

% **8**
YAYINLAR

%
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- 1** ÖZKARAKAŞ, Emre, ÖZBEK, Ö Alpay, AVKAN OĞUZ, Vildan and SAYINER, A Arzu. "Solid Organ Nakli Alıcılarında CMV Antijenemi Testi ve CMV-DNA PCR Sonuçlarının Karşılaştırılması", Mikrobiyoloji Derneği, 2016. Yayın **%5**
- 2** mikrobiyolbul.org
İnternet Kaynağı **%1**
- 3** klimud2015.org
İnternet Kaynağı **%1**
- 4** www.mikrobiyolbul.org
İnternet Kaynağı **%1**
- 5** www.klimik.org.tr
İnternet Kaynağı **%1**
- 6** istanbulsaglik.gov.tr
İnternet Kaynağı **<%1**

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Dinçer KOÇ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 09.08.1983-LİBYA

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 352 207 66 66

email: dincerkoc@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD 38039

Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet
Yüksek Lisans	EÜ Sağlık Bilimler Enst. Tıbbi Mikrobiyoloji ABD	2018
Lisans	EÜ Fen-Edebiyat Fak.-Biyoloji	2005
Lise	Melikgazi Lisesi	2000

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2006-Halen	EÜ Merkez Bakteriyoloji Lab.	Biyolog

YABANCI DİL

İngilizce