

EVİRİM ÖZDEMİR

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2022

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PRENATAL ENFEKSİYON ŞÜPHELİ FETÜSLERDE
CYTOMEGALOVİRUS ENFEKSİYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

EVİRİM ÖZDEMİR

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. HAYRİYE KIRKOYUN UYSAL**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF



Aileme..

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen, verimli bir çalışma ortamı sağlayan değerli hocam, Doç. Dr. Hayriye KIRKOYUN UYSAL başta olmak üzere, yüksek lisans eğitimim boyunca yetişmemde emek harcayan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN ve diğer öğretim üyeleri Prof. Dr. Betigül ÖNGEN, Prof. Dr. Meltem UZUN, Prof. Dr. Zayre ERTURAN, Prof. Dr. Özden BÜYÜKBABA BORAL, Prof. Dr. Zerrin AKTAŞ, Prof. Dr. Dilek ŞATANA, Prof. Dr. Gülseren AKTAŞ, Doç. Dr. Yaşar NAKİPOĞLU, Doç. Dr. Lütfiye ÖKSÜZ, Doç. Dr. Sevim MEŞE, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖNEL'e, tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan Bilim Uzmanı Derya ÖNEL'e, laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Bilim Uzmanı Mürvet BOZACI'ya, Biyolog Ünzüle Tuğçe GÖR'e, Dr. Biyolog Kutay SARSAR'a ve beni her daim destekleyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İTHAF	İİ
TEŞEKKÜR.....	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
TABLolar LİSTESİ	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Vİİİ
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	4
2.3. Virusun Morfolojisi ve Yapısı.....	6
2.4. Evrim.....	7
2.5. Replikasyon.....	7
2.6. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	8
2.7. Epidemiyoloji	9
2.8. Patogenez ve İmmünite.....	11
2.8.1. Maternal-fetal Arayüzde Viral Enfeksiyon	13
2.9. Klinik Belirti ve Bulgular	14
2.9.1. Normal Konaklarda CMV İnfeksiyonları	16
2.9.2. İmmün Yetmezliği Olan Konaklarda ve Solid Organ Alıcılarında CMV İnfeksiyonları.....	17
2.9.3. Konjenital CMV İnfeksiyonları	17
2.9.4. Perinatal CMV İnfeksiyonları.....	18
2.10. CMV'nin Laboratuvar Tanısı.....	19
2.10.1. Direkt İnceleme.....	21
2.10.1.1. Histopatolojik Tanı.....	21
2.10.1.2. Antijenemi Testi (pp65 Testi)	22
2.10.1.3. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri	23

2.10.1.4. Direkt Saptama Yöntemleri	24
2.10.2. Virus İzolasyonu	24
2.10.2.1. Hücre Kültürleri	24
2.10.2.2. Serolojik Yöntemler	25
IgG Avidite Testi	27
2.11. Tedavi.....	29
2.12. Korunma.....	30
2.12.1. Aşı	30
2.12.1.1. Zayıflatılmış CMV Aşıları.....	31
2.12.1.2. Subunit aşılar.....	32
Saflaştırılmış rekombinant gB subunit aşıları:	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Çalışma Grubu.....	36
3.2. Gereçler	36
3.3. Yöntemler.....	37
3.3.1. CMV IgM ve CMV IgG ELISA Testi	37
3.3.2. CMV IgG Avidite Testi.....	37
3.3.3. CMV-DNA PCR Testi	39
3.3.3.1. CMV DNA Viral Yük Belirlenmesi.....	39
3.3.3.2. CMV DNA Viral Yük Sonuçlarının Değerlendirilmesi	40
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA	46
KAYNAKLAR	54
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	62

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Herpesvirusların ayırdedici özellikleri	4
Tablo 2-2: Farklı kanserlerde saptanan CMV antijenleri	16
Tablo 2-3: CMV'nin çeşitli popülasyon gruplarında oluşturduğu hastalıklar	19
Tablo 2-4: Erken gebelik döneminde CMV'ye ait serolojik sonuçların yorumlanması	27
Tablo 2-5: CMV tanı testlerinin avantaj ve dezavantajları	29
Tablo 3-1: Optik Dansite değerleri.....	37
Tablo 3-2: Kontrol ve örneklerin kuyucuklara dağıtılan miktarları.....	38
Tablo 3-3: CMV IgG Avidite testi sonucu akut veya kronik enfeksiyon yorumlama tablosu.....	39
Tablo 3-4: CMV DNA PCR karışım miktarları.....	39
Tablo 3-5: Rotor-Gene Q cihazında denatürasyon ve amplifikasyon döngü tablosu	40
Tablo 4-1: CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG Avidite testlerine ait pozitifliklerin yaş gruplarına göre dağılımı	44
Tablo 4-2: Amniyotik sıvı örneklerinde CMV DNA PCR testinin yaş gruplarındaki dağılımı.....	45
Tablo 5-1: Türkiye'de yakın dönemde gebe kadınlarda yapılan bazı çalışmalarda CMV seroprevalans ve IgG Avidite verileri	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: A. Sifilizli 8 aylık bir fetüsün akciğer, böbrek ve karaciğerinde Jesionek ve Kiolemenglou tarafından görülen “Protozoa” benzeri hücreler, B. İntranükleer inklüzyonlu CMV ile enfekte sitomegalik hücre	3
Şekil 2-2: CMV viryonunun şematik gösterimi	6
Şekil 2-3: Bir insan hücresinde CMV'nin replikasyonu	8
Şekil 2-4: Maternal ve neonatal CMV enfeksiyonunun küresel epidemiyolojisi	10
Şekil 2-5: CMV'ye karşı konak bağışıklık tepkileri	12
Şekil 2-6: Maternal-fetal arayüzdeki hücre tipleri	14
Şekil 2-7: Gestasyonel yaşa bağlı olarak fetal enfeksiyon ve bebekte sekel riski	18
Şekil 2-8: A. İntranükleer inklüzyonların "baykuş gözü" görünümünü gösteren Cytomegalovirus ile enfekte hücreler, B. İnterstisyel pnömonili bir hastadan alınan akciğer dokusundaki dev hücrenin ışık mikroskopi (x480)	21
Şekil 2-9: CMV antijeni-pozitif PMNL ×100 (A) ve ×400 (B)	22
Şekil 2-10: CMV'nin elektron mikroskopi görüntüsü	24
Şekil 2-11: Primer CMV enfeksiyonunu takiben zaman içinde CMV IgM, IgG ve IgG avidite seviyelerindeki değişiklikler	28
Şekil 2-12: Anti-HCMV ilaçlarının CMV ile enfekte hücreye etki mekanizması	30
Şekil 3-1: Floresans kanalı Cycling Green içinde kantitasyon standartlarının (CMV QS 1-4) saptanması (NTC: Negatif Kontrol).....	41
Şekil 4-1: CMV DNA pozitif örneklerin yaş gruplarındaki dağılım grafiği	42
Şekil 4-2: CMV DNA saptanan bir örneğin ve kantitasyon standartlarının eğrileri.....	43
Şekil 4-3: CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG Avidite testleri pozitifliğinin yaş grupları arasındaki dağılım grafiği	44
Şekil 4-4: CMV DNA pozitifliğinin yaş grupları arasındaki dağılım grafiği.....	45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

CMV:	Cytomegalovirus
ICTV:	Virus Taksonomisi Uluslararası Komitesi
HHV-5:	İnsan Herpesvirus 5
HSV:	Herpes Simplex Virus
VZV:	Varicella-Zoster Virus
EBV:	Ebstein-Barr Virus
KSHV:	Kaposi Sarkomu Herpes Virusu
ORF:	Açık Okuma Çerçevesi
DBS:	Topuk Kanı Emdirilmiş Kağıt Testi
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
HIV:	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virusu
NK:	Natural Killer (Doğal Öldürücü)
MHC:	Majör Histokompatibilite Kompleksi
DC:	Dendritik Hücre
TLR:	Toll-like Receptor
IFN:	İnterferon
Th cell:	T helper Hücre
BAL:	Bronkoalveolar Lavaj
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
IUBK:	Intrauterin Büyüme Kısıtlılığı
GSC:	Glioma Kök Hücresi
PMNL:	Polimorfnükleer Lökosit
NAAT:	Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri
RT-PCR:	Real-time PCR
CPE:	Sitopatik Etki
ELISA:	Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz
EIA:	Enzim İmmünoassay
IFA:	İndirekt İmmü floresan Antikor

FDA: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi

VLR: Virus Benzeri Partikül

eVLP: Zarflı Virus Benzeri Partiküller

VEE: Venezüella At Ensefaliti Virusu

LCMV: Lenfositik Koriomenenjit Virusu

CTL: Sitotoksik T Lenfosit

MVA: Modifiye Aşı Virusu Ankara

HSCT: Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu

OD: Optik Dansite

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü



ÖZET

Özdemir E. Prenatal Enfeksiyon Şüpheli Fetüslerde Cytomegalovirus Enfeksiyonlarının Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2022.

Cytomegalovirus (CMV) enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. CMV vücut sekresyonlarıyla bulaşmakta ve enfeksiyon sıklıkla asemptomatik seyretmektedir. Bununla birlikte bağışıklık sisteminde defekti olan kişilerde ve konjenital enfeksiyonlarda mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir. Konjenital CMV enfeksiyonları nörogelişimsel bozukluklarla, gebelikte ve yenidoğanlarda görülen anomalilerle ilişkilendirilmektedir. Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniklerine başvuran 19-45 yaş aralığında ve konjenital anomali saptanan 141 gebe kadından alınan serum ve amniyotik sıvı örneklerinin değerlendirilmesi ve CMV enfeksiyon prevalansı ile birlikte enfeksiyonun akut veya kronik olarak ayrımının saptanması amaçlanmıştır. ELISA yöntemi ile serum örneklerinde CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG avidite testleri değerlendirilmiştir. CMV DNA'nın varlığı ise amniyotik sıvı örneklerinde Real-Time PCR (RT-PCR) yöntemi ile araştırılmıştır. Gebelere ait serolojik test sonuçları değerlendirildiğinde 141 (%100) gebede CMV IgG pozitif ve 2 (%1,41) gebede CMV IgM şüpheli pozitif bulunmuştur. Şüpheli pozitif örneklerde CMV IgG avidite testi sonucunda maternal serumda düşük avidite saptanmıştır. Kantitatif viral yük sonuçları değerlendirildiğinde ise 17 (%12,05) gebede CMV DNA saptanmıştır. Kadın doğum uzmanlarının gebelik döneminde oluşabilecek konjenital enfeksiyonların belirlenmesinde serolojik yöntemlerin yetersiz kalması nedeniyle klinik bulguları PCR testleri ile birlikte değerlendirmesi akut enfeksiyon veya reaktivasyonun belirlenmesi açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: CMV, Prenatal Enfeksiyon, RT-PCR, Amniyotik Sıvı, Fetüs

ABSTRACT

Ozdemir, E. Investigation of Cytomegalovirus Infections in Fetuses with Suspected Prenatal Infection. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Microbiology Department. Master's Thesis. İstanbul. 2022

Cytomegalovirus (CMV) infections are common all over the world. However, it is an important cause of mortality and morbidity in people with immune system defects and congenital infections. Congenital CMV infections are associated with neurodevelopmental disorders and anomalies seen in pregnancy and newborns. In our study, the aim is evaluating the serum and amniotic fluid samples taken from 141 pregnant women between the ages of 19-45 and diagnosed with congenital anomalies, who applied to the İstanbul Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology Outpatient Clinics, and determining the differentiating between acute and chronic infections with prevalence of CMV infection. CMV IgM, CMV IgG and CMV IgG avidity tests were investigated by ELISA method. The presence of CMV DNA in amniotic fluid samples was evaluated by Real-Time PCR (RT-PCR) method. When the serological test results of the pregnant women were evaluated, CMV IgG was positive in 141 pregnant (100%) and CMV IgM was suspected positive in 2 (1.41%) pregnant woman. As a result of the CMV IgG avidity test in the suspected positive samples, low avidity was detected in the maternal serum. When the quantitative viral load results were evaluated, CMV DNA was detected in 17 (12,05%) pregnant women. Since serological methods are insufficient in determining congenital infections that may occur during pregnancy, obstetricians' evaluation of clinical findings together with PCR tests is important in terms of determining acute infection or reactivation.

Keywords: CMV, Prenatal Infection, RT-PCR, Amniotic Fluid, Fetus

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Herpesviridae ailesinde yer alan CMV'nun neden olduğu enfeksiyonlar, dünya genelinde oldukça yaygın olup, tükürük, idrar, süt ve genital sekresyonlar gibi vücut salgılarıyla virus atılımını seyreden aktif viral replikasyon periyodu, viremik faz ve bazı olgularda da mononükleoz sendrom benzeri enfeksiyon tablosuyla karakterizedir [1].

Konjenital CMV enfeksiyonları annenin gebelik sırasında geçirmiş olduğu aktif enfeksiyonlar (primer enfeksiyon, reaktivasyon veya farklı bir virus kökeniyle yeni enfeksiyon) esnasında virusun uterus ve plasental bölgelerde çoğalması ve fetüse geçmesi ile meydana gelmektedir [2]. Konjenital enfeksiyonlu bebeklerin sadece %5-10'u doğduğunda semptomatik iken geri kalanı asemptomatiktir [3, 4]. Semptomatik bebeklerin bir bölümü (%4) enfeksiyon sırasında oluşabilecek komplikasyonlardan dolayı erken dönemlerde hayatlarını kaybetmekte iken çoğunluğu (%40-60) hayatlarını nörolojik defektlerle sürdürmek durumundadırlar [5]. Semptomatik bebeklerde görme bozuklukları, mental retardasyon-kognitif bozukluk, sensörinöral işitme kaybı gibi sekeller görülmektedir [1].

CMV enfeksiyonlarının saptanmasında kullanılan ilk basamak testler serolojik yöntemlerdir. Konjenital CMV enfeksiyonlarının önemli bir bölümü primer maternal enfeksiyonlarla ilişkili olsa da, seronegatif annelere yönelik spesifik müdahalelerin olmaması, fetal prognoz hakkındaki belirsizlik ve reaktivasyon-reenfeksiyon ilişkili enfeksiyonların yüksek oranı rutin maternal antikor tarama konsensusu önünde bir engel olarak karşımıza çıkmaktadır. [6].

Konjenital enfeksiyon varlığını belirlemenin en uygun yolu gebelik döneminin 20-21. haftalarından sonra amniyotik sıvı örneklerinde virus izolasyonu veya CMV DNA varlığının saptanmasıdır. PCR ve viral kültür testlerinin pozitifliği ile fetal enfeksiyon varlığı gösterilebilir ancak enfeksiyonun fetüs üzerindeki etkisinin tespit edilebilmesi mümkün değildir. Fetal beyin tutulumu belirtileri veya amniyotik sıvıda kantitatif PCR ile viral yükün saptanması prognozun belirlenmesi açısından klinisyene yardımcı olmaktadır [7]. CMV'nin yavaş çoğalan bir virus olması ve erken gebelikte fetal böbrekler tarafından yeterli miktarlarda atılmaması sebebiyle 21-22. gebelik haftalarından önce yapılan amniyosentezde CMV DNA saptanamayabilmekte ve yanlış

negatif sonuçlar elde edilebilmektedir. Bu durum, gebeliğin 20. haftası öncesinde testin duyarlılığının %45 olmasını en iyi şekilde açıklamaktadır [7].

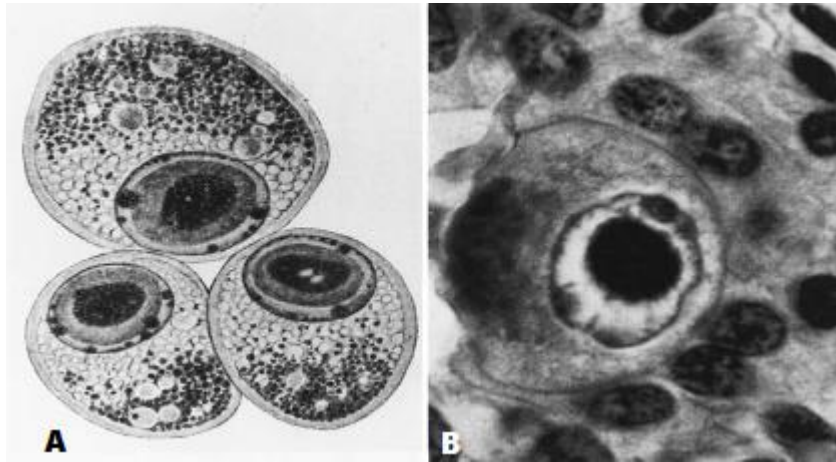
Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniklerine başvuran ve konjenital anomali saptanan gebe hastalardan alınan maternal serum ve amniyotik sıvı örnekleri değerlendirilmiştir. Amniyotik sıvılarda CMV DNA varlığı RT-PCR yöntemi ile araştırılmış, maternal serum örneklerinde ise ELISA yöntemi ile CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG avidite testleri değerlendirilmiştir. Çalışmamızda seroloji testlerinin temel kullanımı latent CMV enfeksiyonunun reaktivasyon olasılığına yönelik tarama amaçlıdır. Ayrıca, gebelik süresince ve yenidoğanlarda CMV enfeksiyonu anomalilere sebep olabildiğinden, enfeksiyonun akut veya kronik ayrımı ve hastanemize yapılan başvurulardaki CMV enfeksiyon prevalansının saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

CMV'nin erken tarihi iki döneme ayrılmaktadır. İlk dönemde, bu virusun neden olduğu karakteristik sitopatoloji tanımlanmış ve bu dönem "Sitopatoloji dönemi", ikinci dönem ise, virusun izolasyonu ile başlamış ve "virolojik dönem" olarak adlandırılmıştır. Her iki dönem de CMV ile ilişkili hastalık yelpazesinin aydınlatılması açısından yararlı olmuştur [8].

Sitopatoloji dönemi: 1881 yılında Ribbert, sifilizli ve ölü doğan (luetic stillburn) bir bebeğin böbrek kesitlerinde intranükleer inklüzyonlara sahip büyük hücreler gözlemlemiştir [9]. Fakat Jesionek ve Kiolemenoglou'nun raporunu görene kadar gözlemini yorumlayamamıştır [10]. Jesionek ve Kiolemenoglou, 8 aylık bir fetüsün akciğerlerinde, böbreklerinde ve karaciğerinde gördükleri büyük hücreleri 'protozoa benzeri' hücreler olarak yorumlamışlardır. Bu protozoa benzeri hücreler 20-30 µm büyüklüğünde olmakla birlikte, değişik bir formda yerleştirilmiş çekirdekleri ve her birinin berrak bir hale ile çevrilmiş merkezi nükleer bir gövde (Central Nuclear Body) içerdiği görülmüştür (Şekil 2-1) [8].



Şekil 2-1: A. Sifilizli 8 aylık bir fetüsün akciğer, böbrek ve karaciğerinde Jesionek ve Kiolemenglou tarafından görülen "Protozoa" benzeri hücreler [8], B. intranükleer inklüzyonlu CMV ile enfekte sitomegalik hücre [11].

1921'de Goodpasture ve Talbot; 6 haftalık bir çocuğun karaciğer, akciğer ve böbreklerinde eozinofilik intranükleer inklüzyon bulunduğu raporunu hazırlamıştır. Bu

durumu tanımlamak için “Cytomegalia” terimini sunmuşlardır [11]. 1925 yılında Von Glahn ve Pappenheimer intranükleer inklüzyonlara sahip hücrelerin, şimdilerde Herpesviridae olarak bilinen bir grup virusla ilişkili olabileceği yorumunu yapmışlardır [12].

Virolojik dönem: CMV’nin hücre kültürlerinde izolasyonunu yapmak sitopatolojik dönemde mümkün olmamış ve deney hayvanlarında da üretilmemiştir. Kültür tekniklerinin gelişmesi ile ancak 1950’lerde virusun izolasyonu mümkün olmuştur [11].

Fetterman, 1952 yılında şüpheli bir olgunun idrar sedimentini incelemiş ve ilk kez yaşayan bir vakada virus tanımlanmıştır [13].

Smith 1956’da [14], Rowe ve arkadaşları 1956’da [15], Weller ve arkadaşları 1957’de [16] insan hücre kültürü çalışmalarında CMV suşlarını üretmeyi ve birbirlerinden bağımsız şekilde izole etmeyi başarmışlardır. Weller ve arkadaşlarının önerisi ile virus ‘Cytomegalovirus’ olarak adlandırılmıştır [17].

2.2. Sınıflandırma

Virus Taksonomisi Uluslararası Komitesi (International Committee for the Taxonomy of Viruses: ICTV) tarafından İnsan Herpesvirus 5 (HHV-5) olarak tanımlanan CMV; Herpesviridae ailesinin bir üyesidir. Herpesviridae ailesi biyolojik olarak, yeniden üreme döngüsü, konak sınıfı, karakterlerine ve sitopatolojilerine göre; *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* ve *Gamaherpesvirinae* olmak üzere üç alt ailede toplanmıştır. CMV, *Betaherpesvirinae* alt ailesinde bulunmaktadır [18]. İnsan CMV’si Cytomegalovirus cinsi içindedir ve ismi virusla enfekte olan hücrelerin büyümesinden (cyto:hücre, mega:büyük) kaynaklanmıştır [19, 20].

Tablo 2-1: Herpesvirusların ayırdedici özellikleri [18]

Alt Aile	Virus	Primer Hedef Hücre	Latentlik Bölgesi	Yayılma Yolu
Alphaherpesvirinae				
İnsan Herpesvirus 1	Herpes Simplex Tip 1	Mukoepitelyal hücreler	Nöron	Yakın temas
İnsan Herpesvirus 2	Herpes Simplex Tip 2	Mukoepitelyal hücreler	Nöron	Yakın temas (Cinsel Yolla Bulaşan Hastalık)

İnsan Herpesvirus 3	Varisella-Zoster Virus	Mukoepitelyal hücreler ve T hücreleri	Nöron	Solunum Yolu ve yakın temas
Gamaherpesvirinae				
İnsan Herpesvirus 4	Epstein-Barr Virus	B hücreleri ve epitelyal hücreler	B hücreleri	Tükürük
İnsan Herpesvirus 8	Kaposi Sarkomu ilişkili Virus	Lenfosit ve diğer hücreler	B Hücreleri	Yakın temas, tükürük?
Betaherpesvirinae				
İnsan Herpesvirus 5	Sitomegalovirus	Monosit, granülosit, lenfosit ve epitelyal hücreler	Monosit, lenfosit ve ?	Yakın temas, transfüzyonlar, doku transplantı ve konjenital
İnsan Herpesvirus 6	Herpes Lenfotropik Virus	CMV gibi, salgı bezleri, nöronlar	T hücreleri ve ?	Tükürük
İnsan Herpesvirus 7	İnsan Herpesvirus 7	CMV gibi	T hücreleri ve ?	Tükürük
?: Diğer hücrelerin de primer hedef veya latentlik bölgesi olabileceğini gösterir.				

Alfaherpesviruslar (α) nöronlarda latent enfeksiyon oluşturan ve hızlı üreyen sitolitik viruslardır. Herpes Simplex Virus (genus Simplex virus; HSV) ve Varicella-Zoster Virus (genus Varicello virus; VZV) bu alt aile içinde yer alır.

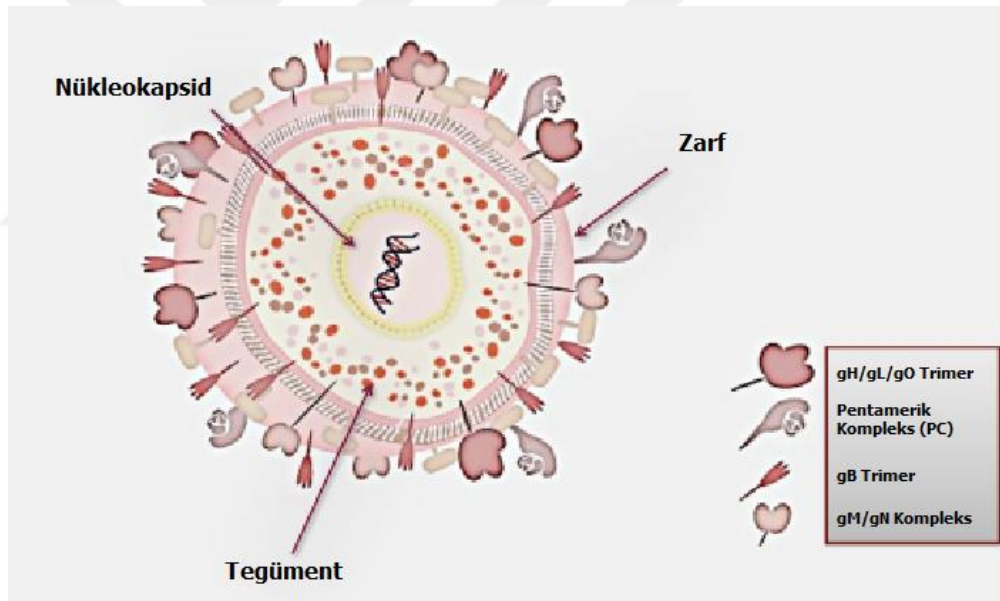
Betaherpesviruslar (β), sitomegali oluşturan (enfekte hücrelerin büyümesi) ve böbrek ile salgı bezlerinde latent kalabilen viruslardır. Biyolojik açıdan bakıldığında T lenfositlerini enfekte ettiklerinden dolayı gamaherpesviruslara benzerler, fakat genomlarının moleküler analizi incelendiğinde betaherpesviruslar ile daha yakın ilişkili oldukları gösterilmiştir. Güçlü bir tür özgüllüğü, tükürük bezine olan tropizmi ve hücre kültüründe yavaş üremeleri Betaherpesvirusları ayırt edici kılmaktadır. CMV bu grupta yer almaktadır.

Gamaherpesviruslar (γ), lenf bezlerini enfekte eden ve burada latent kalabilen bir gruptur. Epstein-Barr Virus (EBV) (genus Lymphocryptovirus) ve HHV-8 olarak

adlandırılan Kaposi Sarkomu Herpes Virusu (KSHV), Rhadinovirus genusunda yer almaktadır [20, 21].

2.3. Virusun Morfolojisi ve Yapısı

Lineer çift sarmallı ve oldukça büyük bir DNA genomu içeren, 162 kapsomerli bir ikosahedral simetrik kapsitten, amorf bir tegument veya matristen ve bunları çevreleyen fosfolipitçe zengin bir kılıftan meydana gelen CMV, Herpesviridae ailesinin tipik özelliklerini sergilemektedir (Şekil 2-2). Bununla birlikte CMV viryonu, HSV viryonuna benzemekle birlikte ikisi arasındaki en büyük fark; CMV genomunun, HSV'nin genomundan yaklaşık %50 kat daha büyük olmasıdır [22]. CMV genomu, konağın bağışıklık sistemini modüle eden yapısal, düzenleyici proteinlerden ve proteinleri kodlayan 200'den fazla ORF (açık okuma çerçevesi)'den oluşur [19].



Şekil 2-2: CMV viryonunun şematik gösterimi [23].

Zarf, tegument ve nükleokapsid bölümlerini gösteren protipik virüs partikülünün kesit görünümü. Viral zarf, kodlanmış çok sayıda glikoprotein türü içeren, konakçı hücreden türetilen bir fosfolipid çift tabakasından oluşur. Ek olarak, gB kompleksi (trimer), gH/gL/gO kompleksi (trimer), gM/gN kompleksi (dimer) ve gH/gL/UL128/ dahil olmak üzere potansiyel CMV aşı hedefleri olarak değerlendirilen bazı önemli glikoproteinleri içerir.

2.4. Evrim

CMV gen ürünleri ve genom organizasyonu benzerliğine dayanarak, CMV'lerin son 150 milyon yılda memelilerin ortak atalarıyla birlikte evrimleştiği tahmin edilmektedir. Viral DNA sentezi, kapsid oluşması ve genom paketlenmesinin Herpes virusu ile korunan süreçlerine aracılık eden çekirdek genler ve gerçek-geç gen ürünlerinin transkripsiyonunda yer alan bir dizi gen ve viral TATA bağlayıcı proteinin, evrimsel kökenleri uzak olan bir DNA bakteriyofaj atasından olduğu düşünülmüştür. Tüm bu faktörler ve viryon olgunlaşması, Herpes virusu çekirdek genleri ile oluşmaktadır. Uzun evrimleri nedeniyle, betaherpes viruslar, ilgili konak türlerinden daha büyük bir değişim sergilerler. Bu nedenle, insan olmayan primat CMV'leri, büyük maymun ve insan CMV'lerini karşılaştırırken bile gen içeriği ve işlevinde çeşitlilik bulunmaktadır. Biyolojik olarak ilişkili, ancak türe özgü virüslardaki bu aşırı çeşitlilik, alfa herpes viruslarında veya gama herpes viruslarında gözlemlenenden çok daha fazladır. Genom organizasyonundaki en büyük koruma, insan CMV ve şempanze CMV'si arasında veya murin CMV ve sıçan CMV gibi yakından ilişkili konak türlerini enfekte eden viruslar arasındadır. CMV ile yaşam boyu enfeksiyon sırasında tek bir konakçıda birden fazla suşun varlığından söz edilebilir.

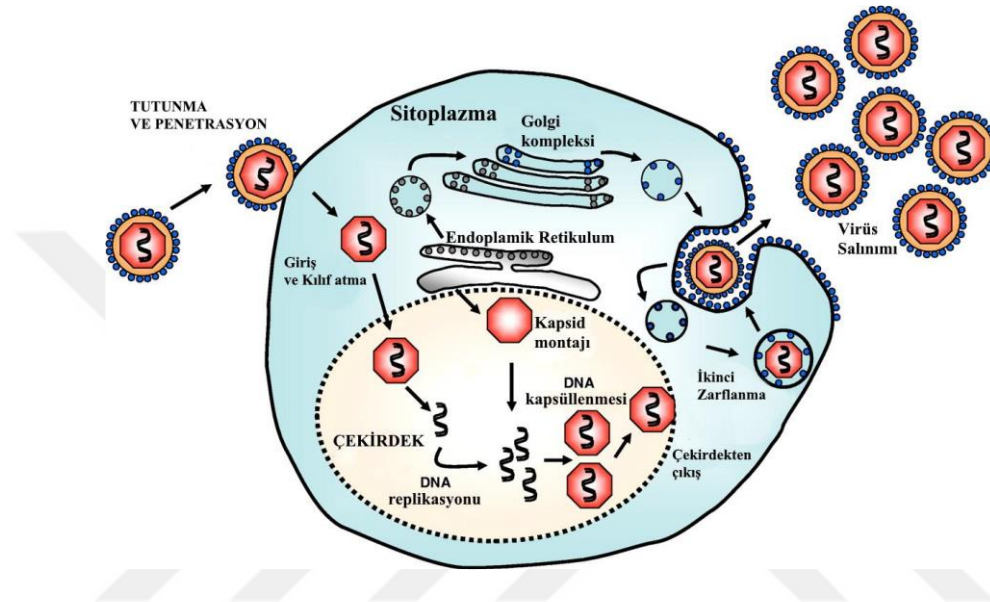
Doğrudan salgılarda veya enfekte dokularda saptananlar da dahil olmak üzere dolaşımdaki birçok CMV suşuna ait genom dizileri belirlenmiştir. CMV suşları arasında ortalama >%95 DNA dizi benzerliği gözlenir. Birden fazla suşun varlığı ve konak içi varyasyonun yanı sıra tek bir bireyde birden fazla farklı suşun saptanması, hastalık patogenezi etkilemekte ve reenfeksiyona yatkınlığı açıklamaktadır. Bu nedenle, kendi CMV'sine sahip her hayvan türünde virus hem yaygın bir dağılıma hem de olağanüstü bir bulaşma yeteneğine sahiptir [24].

2.5. Replikasyon

Viral replikasyon, konak hücrenin çekirdeğinde meydana gelir ve "immediate early (α), delayed early (β) ve late (γ)" gen sınıflarının ekspresyonunu içerir. DNA replikasyonu sonrasında yeni viryonların oluşması için gerekli olan proteinleri kodlayan genlerin büyük bölümü "late gen" olarak ifade edilmektedir. Viral zarf, nükleer zarın iç yüzeyinde oluşan nükleokapsid tomurcuklarından köken alarak meydana gelir.

CMV türleri arasındaki varyasyonu incelemek için moleküler ve immünolojik teknikler kullanılmıştır. Farklı CMV suşlarının standart laboratuvar referans suşlarından

olan AD-169 ve Towne ile aralarında %95 homoloji gösterilmiş olmasına rağmen, genetik olarak farklı CMV genotiplerindeki virus genomuna ait çoklu kodlayıcı ve kodlayıcı olmayan bölgelerindeki polimorfizmler de tanımlanmıştır. Suş çeşitliliği, coğrafi dağılım, bulaşma, doku tropizmi, immünopatogenez ve hastalığın klinik belirtilerindeki spesifik farklılıklarla ilişkilendirilmiştir. Ancak CMV genotiplerinin enfeksiyon ve hastalıktaki kesin rolü ve önemi büyük ölçüde bilinmemektedir [19].



Şekil 2-3: Bir insan hücresinde CMV'nin replikasyonu [25].

CMV, insan hücrelerine ya doğrudan füzyon yoluyla ya da endositik yol ile girer. Virus hücreye viral glikoproteinler (örn., gB ve gH) ve spesifik yüzey reseptörleri (örn., trombosit türevli büyüme faktörü) arasındaki etkileşimler yoluyla bağlanır. Nükleokapsidler sitoplazmaya girer. Viral DNA konak hücre çekirdeğine taşınır. IE-1/IE-2 genlerinin ekspresyonu başlar, viral replikasyon ve olgunlaşma, daha sonra ise viral DNA'nın kapsüllenmesi gerçekleşir. Zarflanma, Endoplazmik Retikulum-Golgi ara bölmesindeki sitoplazmada meydana gelir. Bunu, plazma membranında ekzositoz yoluyla viryon salınımına yol açan iki aşamalı son zarflanma ve hücreden çıkış süreci takip eder (Şekil 2-3) [25].

2.6. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler

CMV, 2 saatte %20'lik eter solüsyonu ile, 5 dakikada UV ışığında ve 30 dakikada 56°C'de inaktive olur. Bunun yanında, %10'luk sodyum hipoklorid çözeltisine ve düşük pH derecelerine (pH 3,0'ın altında), yağ çözücülerine, fiziksel koşullara,

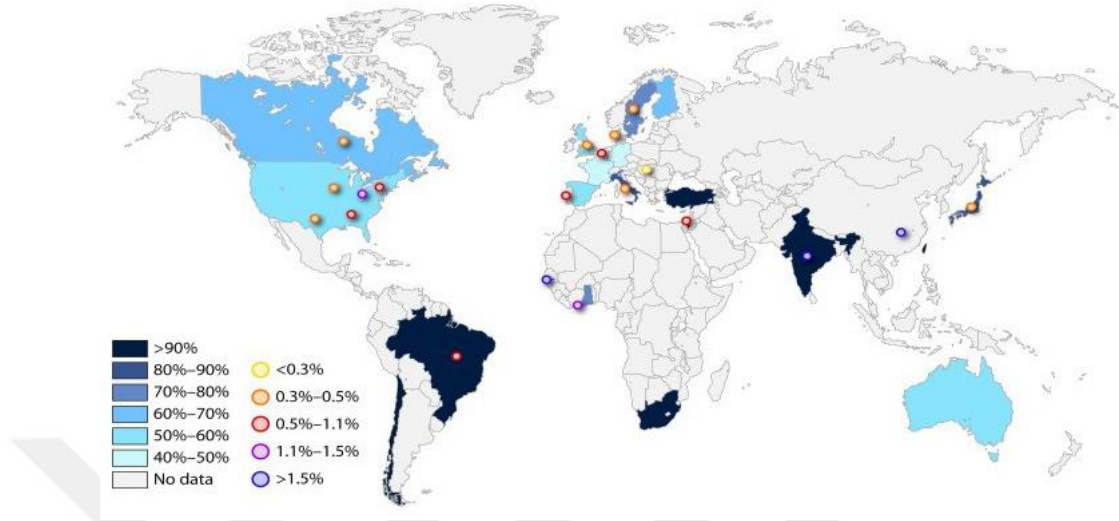
dietil-eter ve kloroforma karşı duyarlıdır. Bu nedenle, saflaştırılmış olan virusun kimyasal analizleri yapılmadan lipid içerdiği de anlaşılmaktadır [8].

Dondurup çözme işlemleri viral kopya sayısının düşmesine neden olur. CMV ile enfekte hücreleri saklamak için; sıvı azot içinde, %10 dimetilsülfoksit ilave edilmiş Eagle besiyeri ve %20 fetal calf serumu veya %20 dimetilsülfoksit ilave edilmiş Eagle'ın minimal essential medium önerilmektedir. Diğer Herpesviruslara nazaran -20°C'a dayanıklılığı daha azdır ve -70°C'da saklanması gerekmektedir [19, 26-28].

2.7. Epidemiyoloji

CMV enfeksiyonu dünya çapında yaygın olmakla birlikte, bilinen tek enfeksiyon kaynağı insandır [2]. CMV antikorlarının prevalansı dünya genelinde popülasyonlar arasında önemli ölçüde farklılıklar göstermektedir [29]. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında CMV'nin küresel seroprevalansının yaklaşık %80 olduğu tahmin edilmiştir (Şekil 2-4) [23, 30]. Gelişmiş ülkelerde, yetişkinlerin yaklaşık %50 ila %75'i, düşük sosyoekonomik bölgelerde ve gelişmekte olan ülkelerde ise yetişkinler daha da yüksek yüzdelerde (%90'dan fazlası) antikor geliştirmiştir. Türkiye'de yapılan bazı çalışmalarda dönemsel ve bölgesel olarak düşük oranlar bulunmuşsa da, kapsamlı çalışmalardan elde edilen verilere göre CMV seropozitifliğinin %96 ila %99.8 aralığında, konjenital CMV enfeksiyonu prevalansının ise %0,2 ila %1,19 arasında olduğu bildirilmiştir [3, 31-34]. Yaş gruplarına göre yaygınlık oranlarına bakıldığında, çocukların yaklaşık %10 ila %15'inin yaşamın ilk 5 yılında CMV ile enfekte olduğu ve sonraki dönemlerde yeni enfeksiyon oranının azaldığını görülmektedir. Bu oran daha sonra yetişkinlik döneminde yılda %1 ila %2 oranında artmaktadır. Enfeksiyon, virus ile enfekte bir kişiyle cinsel temas da dahil olmak üzere yakın kişisel temas yoluyla horizontal olarak bulaşmaktadır. CMV, enfeksiyondan aylar veya yıllar sonra tükürük, servikovajinal sekresyonlar, meni, idrar ve beyaz kan hücrelerinden izole edilebilmektedir. CMV atılım süresi özellikle konjenital ve perinatal enfeksiyonlardan sonra uzamakta, enfekte bebeklerin %35'inde doğumdan sonra 5 yıl kadar virus atılımı görülmektedir [35]. Gündüz bakım merkezlerindeki 1-3 yaş aralığındaki çocuklar, enfeksiyonu diğer çocuklara ve seronegatif ebeveynlere %20 ila %40 gibi yüksek oranlarla bulaştırabilirler [36, 37]. 18 aya kadar gündüz bakım merkezlerindeki bebeklerin %80'i enfekte olmakta ve aktif olarak tükürük ve idrar yoluyla virus atılımı devam etmektedir. Gündüz bakım merkezlerinin aksine, CMV enfeksiyonunun

hastanelerdeki sağlık çalışanları arasında yayıldığına dair önemli bir kanıt bulunmamaktadır [35].



Şekil 2-4: Maternal ve neonatal CMV enfeksiyonunun küresel epidemiyolojisi [1].

Şekil, doğurma çağındaki (12-49 yaş) kadınlar arasındaki dünya çapındaki CMV seroprevalans oranlarına ve konjenital CMV'nin doğum prevalansına ilişkin mevcut verilere genel bir bakış sunmaktadır. Elde edilen doğum prevalansı çalışmaları, yenidoğan topuk kanı emdirilmiş kağıt (DBS) testine ilişkin verilerin kullanıldığı Portekiz ve Hollanda dışında Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), tükürük veya idrar kültürü kullanılmıştır. Konjenital CMV enfeksiyonunun maternal seroprevalansı ve/veya doğum prevalansı ile ilgili verilerin mevcut olduğu ülkeler arasında Brezilya, Kanada, İngiltere, Hindistan, İsrail, İtalya, Japonya, İsveç ve Amerika Birleşik Devletleri bulunmaktadır [1].

CMV, intrauterin, perinatal veya postnatal dönemde de bebeği enfekte edebilmektedir [38]. CMV enfeksiyonunun devamlılığında doğum sırasında plasental geçiş olması önem taşımaktadır. Virus, plasental yolun yanı sıra, doğum anında serviksten asendan yolla (rekürrens sonrası) veya postnatal dönemde anne sütüyle de bulaşabilmektedir [39, 40]. Seropozitif annelerin yaklaşık %10'u bebeğe virusu plasental yol ile bulaştırır ve doğum sırasında CMV ile karşılaşan yenidoğanların yaklaşık yarısı virusla enfekte olur [40]. Seropozitif annelerin %30 ila %70 kadarı sütleri ile virusu bulaştırmaya devam eder. Yapılan çalışmalarda, sütünde virus bulunan annelerin emzirdiği bebeklerin yaklaşık %50'sinin enfekte olduğu saptanmıştır [41]. PCR çalışmaları da, seropozitif annelerin %95'inden fazlasının sütünde CMV DNA'nın olduğunu ve anne sütünde virusun bulunması ile bebeğe geçişi arasındaki ilişkiyi ispatlamıştır [42].

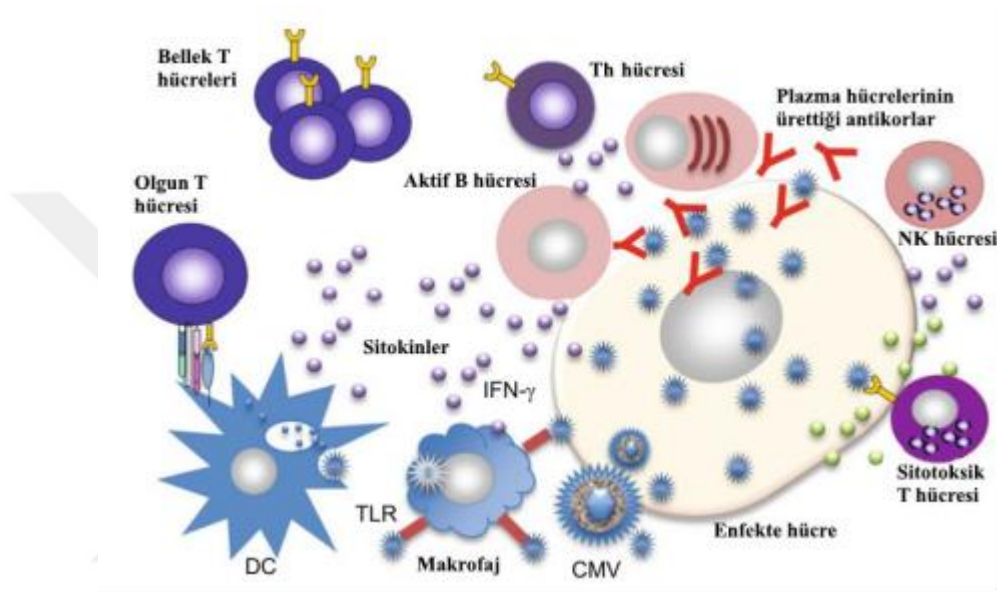
2.8. Patogenez ve İmmünite

Virusların çoğalması, konağın bağışıklık sisteminden kaçmalarına ve konak bağışıklık efektörlerinin virusu yıkımından koruyan bir bağışıklık toleransı oluşturma yeteneklerine bağlıdır. CMV'nin tanınmasını ve yok edilmesini önlemek için geliştirdiği mekanizmalar, tümörün immün sistemden kaçış mekanizmalarıyla büyük benzerliklere sahiptir [43]. Sayısız konak savunma mekanizması göz önüne alındığında, bir viral enfeksiyon, büyük ölçüde virusun çoklu evazyon stratejilerine bağlıdır. Bunlar, viryonlarla birlikte verilen (örn; tegument protein pp65) ve intrinsik hücre savunma mekanizmalarını bloke etmek için enfeksiyonun erken fazında (örn; viral IE proteinleri) aktive olan bazı proteinleri içermektedir.

CMV patogenezi diğer Herpesviruslara oldukça benzerdir ve yoğun litik bir durum oluşturmak yerine persistan ve latent enfeksiyonlar oluşturmaktadır [29]. Virus, özellikle lökosit ve lenfositler aracılığıyla olmak üzere, enfekte hücreler içinde tüm vücuda yayılmaktadır. Latent virus immün sistemin baskılanması (örn; kortikosteroidler, HIV, İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virusu ile enfeksiyon) ve allojenik uyarım ile (örn; transfüze veya transplante hücrelere konak yanıtı) reaktif olabilir [18].

CMV ayrıca hücresel bağışıklık bileşenlerine de etki edebilmektedir. Natural Killer (NK) hücrelerinin fonksiyonlarını inhibe eden en az yedi CMV gen ürünü tanımlanmıştır. Örneğin pp65, NKp30 reseptörü ile etkileşerek NK hücrelerinin sitotoksitesini azaltmakta ve doğal bağışıklık sistemini inhibe etmektedir. Ayrıca CMV antijenlerinin T hücrelerine sunumunu modüle eden gen ürünleri de bulunmaktadır. Bunu antijenlerin MHC (Majör Histokompatibilite Kompleksi) kompleksleri üzerine indüklenmesini inhibe ederek yapan CMV, MHC I moleküllerinin endoplazmik retikulumdan sitozole doğru yer değiştirmesine ve burada daha sonra parçalanmasına neden olabilmekte, dolayısıyla MHC-I moleküllerinin ekspresyonunu engelleyebilmektedir. CMV gen ürünlerinin bazıları (US2, US3, US6 ve US11 proteinleri) da tolerojen bir ortam meydana getirir. Bu proteinler, antijenlerin (viral ve/veya tümörler) CD81 T lenfositlerine sunulmamasına yol açan MHC-I moleküllerinin ekspresyonunu inhibe eder. Benzer şekilde, antijen sunan hücreler (ASH) tarafından CD41 T hücrelerinin aktivasyonu için gerekli olan MHC-II moleküllerinin ekspresyonu, US2, US3 ve pp65 proteinleri tarafından inhibe edilir [43]. Bu şekilde hem CD4 T hücrelerine, hem de CD8 sitotoksik T hücrelerine antijen sunumu virus tarafından engellenmektedir. CMV ayrıca kemokinlere, sitokinlere ve

konağın immun sisteminden kaçışta rol olan reseptörlere benzer bir dizi molekülü de kodlamaktadır. Virus ayrıca, periferik kan mononükleer hücrelerinin proliferasyonunu ve bu hücrelerden sitokinlerin üretimini de inhibe eder. Ek olarak CMV, dendritik hücrelerin olgunlaşmasını inhibe etmekte ve ayrıca apoptoz sürecini başlatabilmektedir. Bu şekilde virus, konak hücre ile kendisi arasında kompleks özellikte bir etkileşim başlatır (Şekil 2-5).



Şekil 2-5: CMV'ye karşı konak bağışıklık tepkileri [44]

CMV: Cytomegalovirus; DC: Dendritik Hücreler; TLR: Toll benzeri reseptör; IFN: İnterferon; Th cell: T yardımcı hücreler; NK cell: Doğal öldürücü hücreler.

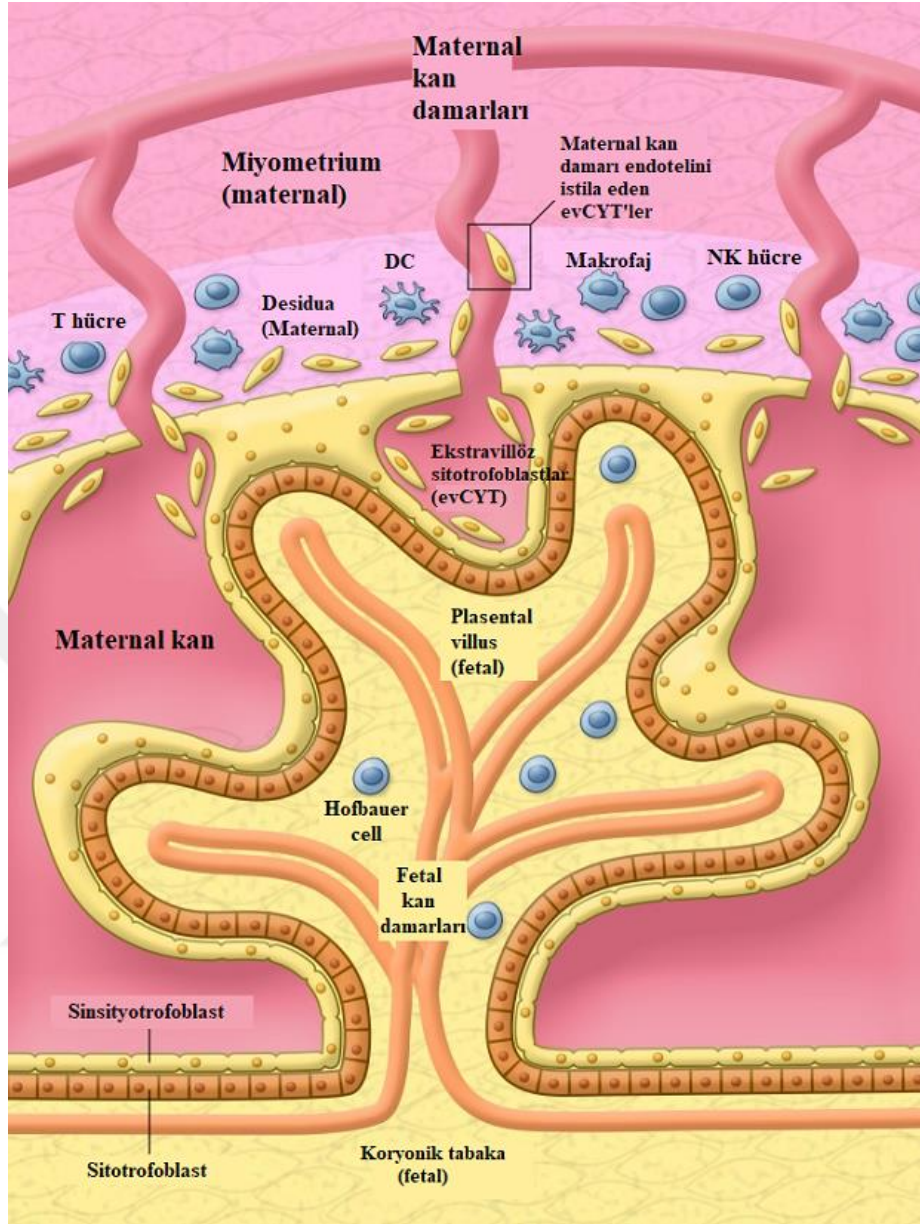
CMV konağın bağışık yanıtını yıkmak için gelişmiş mekanizmalara sahip olmasına rağmen, sağlıklı bireyler genellikle virus partikülleri üreten hücreleri temizleyebilmektedir. Bu temizlikte, bağımsız hücreleri virustan koruyan bağışıklık sisteminin hücre otonom bileşenleri olan intrinsik savunma da önemli bir rol oynamaktadır. Bunlara, yapısal proteinler aracılık etmekte ve bu proteinler CMV enfeksiyonunun çok erken dönemlerinde harekete geçerek temel viral süreci inhibe etmektedir [44, 45].

CMV, EBV ile benzer şekilde, T-helper1 (TH1) koruyucu immun yanıtlarını inhibe edebilen interlökin-10 (IL-10) analogu kodlamaktadır. Bunun yanında virus, çocuklarda sıklıkla görülen medullablastoma, lösemi ve farklı birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir [18].

2.8.1. Maternal-fetal Arayüzde Viral Enfeksiyon

Maternal-fetal arayüzde bugüne kadar tanımlanan en yaygın virus, Herpesviridae ailesinin bir üyesi olan CMV'dir. CMV, hücre yüzeyinde her yerde bulunan heparin sülfat ile etkileşime girebilmekte ve daha sonra integrin alt birimleri ile etkileşimler yoluyla hücrelere nüfuz etmektedir (Şekil 2-6). EGFR ve PDGFR- α gibi diğer reseptörler de enfeksiyonun oluşmasında rol almakla birlikte, bu konudaki fonksiyonları halen tartışmalıdır [46, 47]. CMV'nin konağa girişi için gerekli olan reseptörler, epitel hücreleri, endotel hücreler, kas hücreleri, fibroblastlar, trofoblastlar ve monositler/makrofajlar dahil olmak üzere birçok hücre tipinde mevcut olduğundan bu hücrelerin tamamı CMV ile enfekte olmaktadır. Maternal-fetal arayüzde, özellikle, CMV'nin plasentadan çok endotel hücrelerinde, invaziv sitotrofoblastlarda, fibroblastlarda ve glandüler epitelde [48] enfekte olduğu ve çoğaldığı maternal desiduada saptanma oranı daha yüksektir. Desidual enfeksiyon birinci, ikinci veya üçüncü trimesterde ortaya çıkabilir ve maternal doğal bağışıklık hücrelerindeki varyasyonlardan etkilenir. Örneğin, hamile kadınlarda, desiduada fagosite edilmiş viral proteinler içeren DC'ler ve makrofajlar, potansiyel olarak bu bireylerde enfeksiyona karşı güçlü doğal yanıt nedeniyle enfeksiyonun daha hafif geçirilmesini sağlarlar. [48].

İlginç bir şekilde, plasental CMV enfeksiyonu, desidual enfeksiyondan daha az yaygındır. Bunun nedeni sinsityotrofoblastın CMV girişi için reseptörleri eksprese etmemesi ve virusun sitotrofoblastı enfekte etmek için bu tabakayı geçmesi gerekmesidir. Bu doku organizasyonu nedeniyle, enfeksiyonun şiddeti, humoral bağışıklık ve plasentanın mikrobiyal koenfeksiyonları [48, 50] gibi sinsityotrofoblast tabakasının bozulmasına neden olacak maternal faktörlere bağlıdır. Düşük avidite nötralize edici IgG, virusu bağlayabilir ve sinsityotrofoblast Fc reseptörleri ile etkileşime girebilir, böylece alt tabakadaki sitotrofoblasta viral transsitozu katalize eder [50, 51]. Koenfeksiyonlar veya polimikrobiyal enfeksiyonlar, virusun fetal alana ulaşmasına sebep olabileceğinden, patojenlerin sinsityal tabakaya zarar vermesinde önem taşımaktadırlar. Alternatif olarak, diğer patojenlerin varlığı desidual immün rezervuarda gizli CMV'yi aktive edebilir. Herpesviridae ailesinin diğer bir üyesi olan HSV'nin, gebeliklerin %6 ila %14'ünde desiduayı ve/veya plasentayı enfekte ettiği tahmin edilmekte ve CMV gibi, daha çok gebelikte saptanmaktadır [52].



Şekil 2-6: Maternal-fetal arayüzdeki hücre tipleri [49]

La Torre ve ark.'nın [50] yaptığı çalışmada, CMV ile enfekte olan fetüslerin plasentalarının CMV ile enfekte olmayanlardan önemli ölçüde daha kalın olduğu saptanmış ve CMV enfeksiyonunun yaygın plasental inflamasyona neden olduğu belirtilmiştir.

2.9. Klinik Belirti ve Bulgular

CMV enfeksiyonu ve CMV hastalığı tanımı 1993 yılında Paris'te Dördüncü Uluslararası CMV Konferansında yayınlanmış ve güncellemelerle birlikte 2002 yılında son şeklini almıştır [51]. CMV enfeksiyonu, CMV'ye ait semptom ve bulgular

olmaksızın CMV replikasyonunun gerçekleşmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Yani herhangi bir vücut sıvısında (beyin omurilik sıvısı (BOS), tam kan, idrar, serum, plazma, periferik kan lökositleri, bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı) veya doku örneğinde virus izolasyonu ya da viral proteinlerin (antijenler) veya virus nükleik asitinin tespit edilmesidir [51]. CMV hastalığı ise, CMV'ye ait klinik belirti ve bulgular eşliğinde CMV enfeksiyonunun olmasıdır. CMV hastalığı, hedef organ hastalığı ve viral sendrom (CMV sendromu) olarak da tanımlanabilmektedir [52].

Sağlıklı insanlarda CMV enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir. Bazı durumlarda ateş, boğaz ağrısı, yorgunluk ve lenfadenopati gibi semptomları olan hafif bir hastalık tablosu da meydana gelebilmektedir [53]. Bununla birlikte, bazı sağlıklı genç erişkinlerde CMV, mononükleoz benzeri bir sendroma (heterofil antikor negatif), tümöre veya hepatite neden olabilmektedir. Tablo 2-2'de farklı kanserlerde saptanan CMV antijenleri gösterilmiştir. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda ise hem primer enfeksiyon hem de reaktivasyon şiddetli seyredebilir. Örneğin, kemik iliği nakli yapılan hastalarda, CMV'nin neden olduğu interstisyel pnömoni en sık görülen ölüm nedenidir (%50-90 ölüm oranı). AIDS'li hastalarda ise CMV sıklıkla visceral organlara yayılarak koryoretinit, gastroenterit ve nörolojik hastalıklara neden olmaktadır. AIDS hastalarında körlüğün esas nedeni CMV retinitidir. HIV ile enfekte hastalarda viral yükü azaltan ve CD4 T hücre sayılarının artmasına yardımcı olan antiretroviral tedavi, bu fırsatçı enfeksiyonların önemli ölçüde azalmasını sağlamaktadır [35].

CMV enfeksiyonlarında rutin serolojik tarama yapılması konusunda farklı görüşler bulunduğundan, tanıda prenatal ultrasonografinin önemi büyüktür ve özellikle kraniyal bulgular önem taşımaktadır [54]. İntrakraniyal kalsifikasyonlar, periventriküler hiperekojenite, megasisterna magna, ventrikülomegali, intraventriküler sineşi, lissensefali, talamik hiperekojenite, vermis agenezisi ve serebellar kist saptanabilmektedir. Bunun yanında, lateral ventrikül oksipital hornlarda görülen sineşi önemli bir bulgudur. Hepatosplenomegali, intrauterin büyüme kısıtlılığı (IUBK), hidrops fetalis, kardiyomegali, perikardiyal efüzyon, asit ve hiperekojen barsak da enfeksiyona eşlik edebilmektedir [55].

Tablo 2-2: Farklı kanserlerde saptanan CMV antijenleri [43].

CMV'nin Viral Ürünü	Konağa Etkisi	Oluşturduğu Tümör Tipi
IE1-72	Apoptoz inhibisyonu, hücre proliferasyonu, metastaz ve anjiyogenez	Glioblastomalar, gliomalar, kolorektal kanserler, prostat kanseri ve tükürük bezlerinin kanserleri
pp65	Anjiyogenez, hücre proliferasyonu ve apoptoz	
IE1	Kök hücrelerin indüklenmesi, apoptoz inhibisyonu ve hücre proliferasyonu	Meme kanseri ve gliomalar
IE2	Apoptoz inhibisyonu	
UL37	Apoptoz inhibisyonu	Gliomalar
US28	Apoptoz inhibisyonu, hücre göçü ve anjiyogenez	
IE2-86	İmmün sistemden kaçış, apoptoz inhibisyonu ve hücre büyümesi	
IL-10	Anjiyogenez, immünoşüpresif ve GSC (glioma kök hücre) göçü	
pp71	Anjiyogenez	

2.9.1. Normal Konaklarda CMV Enfeksiyonları

CMV, insandan insana virus taşıyan örnekler ile yakın temas başta olmak üzere birçok farklı yolla bulaşabilir. Virus ile temas ettikten sonra sağlıklı büyük çocuklarda ve yetişkinlerde 4 ila 8 haftalık bir kuluçka dönemi söz konusudur. Virus sistemik bir enfeksiyona neden olmaktadır. Çoğu CMV enfeksiyonu subklinik olmasına rağmen, hastalık enfeksiyöz mononükleoz benzeri bir sendrom olarak ortaya çıkabilir. Tüm Herpesviruslara benzer şekilde, yaşam boyu süren latent enfeksiyonlar oluşturan CMV, primer enfeksiyondan aylar veya yıllar sonra aralıklı olarak farinksten ve idrarla atılabilir. Böbreğin uzun süreli CMV enfeksiyonu normal konaklarda zararlı görünmemektedir. Tükürük bezi tutulumu kronik ve yaygındır. Hücre aracılı bağışıklık, primer enfeksiyonlarda baskılanır ve bu durum, viral enfeksiyonun kalıcılığında önemlidir. Hücresel yanıtların iyileşmesi ise birkaç ay sürebilmektedir [56].

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

CMV, bağışıklığı baskılanmış kişilerde semptomatik primer veya rekürren hastalığa neden olan önemli bir fırsatçı enfeksiyöz ajandır [56].

Akciğerin CMV hastalığı (pnömoni), bağışıklığı baskılanmış hastalarda yaygın olarak görülür ve tedavi edilmediği takdirde mortalite oranı yüksektir. CMV, ciddi derecede immün yetmezliği olan hastalarda (örn. AIDS hastaları) sıklıkla retinit, kolit veya özofajite de neden olur. CMV interstisyel pnömoni ve ensefalite de neden olabilmektedir; ancak diğer fırsatçı ajanlardan ayırt edilmesi zor olabilir. AIDS'li hastaların %10'unda CMV özofajiti, kandidal özofajiti taklit edebilir. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda, düşük oranlarda gastrointestinal sistemde de enfeksiyon oluşturabilir. CMV koliti olan hastalarda genellikle ishal, kilo kaybı, iştahsızlık ve ateş görülür. Etkili antiretroviral tedavi bu hastalıkların görülme sıklığını azaltmıştır. Böbrek nakli sonrası gelişen CMV enfeksiyonlarının nedeni, nakledilen böbrekteki reaktivasyondan sonra greftteki virus replikasyonu ile açıklanmaktadır [18].

2.9.3. Konjenital CMV Enfeksiyonları

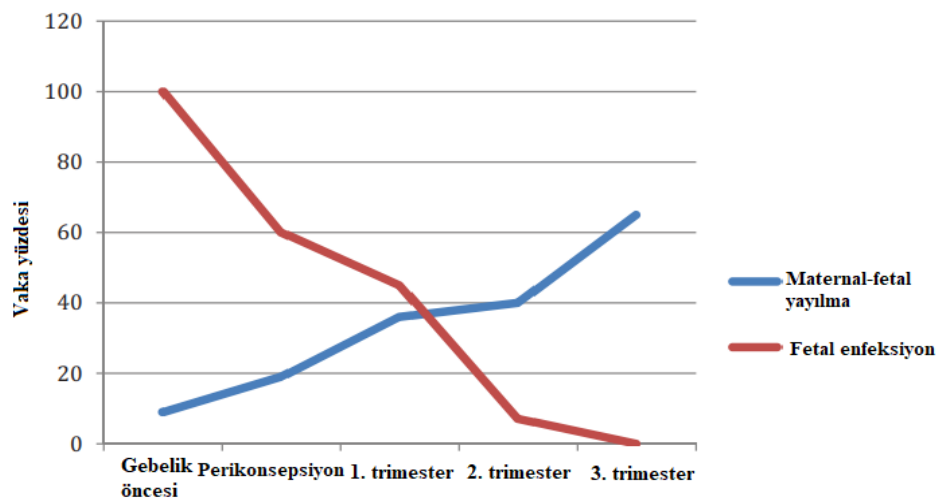
CMV, konjenital hastalıklara neden olan en yaygın viral etkindir. CMV ile enfekte bebeklerin yaklaşık %15'i ölü doğmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki tüm yenidoğanların %1'i doğumdan önce ve bebeklerin de büyük bir çoğunluğu yaşamın ilk aylarında enfekte olmaktadır. Bunların %80'i asemptomatiktir ve uzun süre virus bulaştırmaya devam edebilmektedir; ayrıca %0,1'inde CMV ile ilgili kalıcı problemler meydana gelmektedir. Hastalık belirtileri arasında düşük doğum kilosu, trombositopeni, mikrosefali, intraserebral kalsifikasyon, sarılık, hepatosplenomegali ve döküntü (sitomegalik inklüzyon hastalığı) bulunur. Tek veya çift taraflı işitme kaybı ve mental retardasyon, konjenital CMV enfeksiyonunun sıklıkla görülen klinik tablolarıdır. Gebelikleri sırasında primer CMV enfeksiyonu geçiren annelerden doğan bebeklerde ciddi doğum defektleri riski son derece yüksektir.

Fetüs, annenin kanındaki virusla (primer enfeksiyon) veya serviksten virusun asendan yolla (rekürrens sonrası) yayılması ile enfekte olmaktadır. Konjenital enfeksiyon semptomları daha hafif seyreder veya seropozitif bir annenin bağışık yanıtı ile ortadan kalkabilir. Konjenital CMV enfeksiyonu tanısında en iyi yöntem, yaşamın ilk haftasında yenidoğandan alınan idrar örneklerinde virusun izolasyonudur [18].

Hamilelik öncesi dönemde CMV enfeksiyonuna karşı oluşmuş bağışıklığın varlığına rağmen konjenital CMV ile enfekte bebek doğuran annelerin, bu enfeksiyonu yeni CMV suşları ile aldıkları düşünülmüştür. Bu durum, gebe kadının virusun zarf glikoproteinlerine karşı geliştirdiği özgül antikorların tespiti ile kanıtlanabilmiştir [21]. CMV'ye karşı daha önce bağışık yanıt oluşturan kadınlar da, gebelik döneminde yeni bir CMV suşu ile enfekte olabilmekte ve bu durum doğacak olan bebekte konjenital CMV enfeksiyonu meydana gelmesine neden olabilmektedir [16, 22]. İlgili konuya ait çalışmalar, gebe kadınlarda enfeksiyonun başlangıcı ve doğum zamanı arasındaki süre ile konjenital CMV enfeksiyonun meydana gelmesi arasında doğrusal bir ilişki bulunduğunu göstermiştir. Gebe kadının CMV ile enfekte olma zamanı doğuma ne kadar yakın olursa bebeğin CMV ile enfekte olma olasılığı da o ölçüde artmaktadır [22].

2.9.4. Perinatal CMV Enfeksiyonları

Amerika Birleşik Devletleri'nde, hamile kadınların yaklaşık %60'ı seropozitifdir ve hamilelik sırasında virusun yeniden aktive olması söz konusu olabilir. Enfekte bir anneden doğan bebeklerin yaklaşık yarısı CMV enfeksiyonunu almakta ve 3 ila 4 haftalıkken virus atılımı başlamaktadır. Yenidoğanlar ayrıca anne sütünden veya kolostrumdan da CMV alabilirler. Perinatal enfeksiyon, sağlıklı, zamanında doğan bebeklerde klinik olarak belirgin bir hastalığa neden olmaz. Transfüze kandan CMV alan prematüre bebeklerde ise, genellikle pnömoni ve hepatit ile sonuçlanan önemli klinik tablolar meydana gelebilir.



Şekil 2-7: Gestasyonel yaşa bağlı olarak fetal enfeksiyon ve bebekte sekel riski [57]

Primer CMV enfeksiyonunun vertikal bulaşma oranı %30-40 olmakla birlikte, geçiş riski 3. trimesterde (1. trimesterde %30, 2.trimesterde %34-48 ve 3. trimesterde %40-72) daha fazladır (Şekil 2-7). Fetüste olabilecek en önemli sekel 1. trimesterde meydana gelmektedir [58]. Çünkü 1. trimester, organların gelişiminin meydana geldiği ve herhangi bir hücrenin ölümünün konjenital defektlere neden olabileceği bir dönemdir [59]. Tekrarlayan CMV enfeksiyonunda ise anneden fetüse bulaşma oranı %1-2'dir [58].

Tablo 2-3: CMV'nin çeşitli popülasyon gruplarında oluşturduğu hastalıklar [29].

Popülasyon	Hastalık
Doğmamış Bebek	Konjenital CMV Sendromu
Sağlıklı Ergen	Enfeksiyöz Mononükleoz Sendromu
Solid Organ Nakli Hastası	Organ Nakli Reddi ile İlişkili Yaygın Enfeksiyon
Kemik İliği Nakli Hastası	CMV Pnömonisi
HIV/AIDS Hastası	CMV Retiniti

2.10. CMV'nin Laboratuvar Tanısı

CMV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler 4 ana başlık altında toplanır.

- (1) Enfekte dokularda CMV sitopatolojisinin, antijenin veya DNA'nın saptanması
- (2) Vücut sıvılarında viral DNA veya antijenin saptanması
- (3) Doku veya vücut sıvılarında virus izolasyonu
- (4) Serolojik testler [35].

CMV, seri diploid fibroblast hücre dizilerinde üretilebilir. Viral üremenin gösterilmesi, klinik örnekteki virus konsantrasyonuna bağlı olarak genellikle 1 ila 14 gün gerektirir. Yaygın CMV enfeksiyonunda idrar sedimentinde büyük inklüzyon

taşıyan hücrelerin varlığı saptanabilir. Ancak bu yöntem çok duyarlı değildir ve yalnızca idrarda yüksek miktarlarda virus bulunduğunda istenilen sonuçlar elde edilebilir. Viremiyi göstermek için günümüzde periferik kan lökositlerinde CMV antijeninin belirlenmesi veya PCR ile plazma örneklerinde CMV DNA'sının saptanması yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemler hücre kültürüne göre daha duyarlıdır. Asemptomatik taşıyıcıların yüksek prevalansı ve enfekte kişilerde CMV'nin haftalar veya aylarca bulunmasının yanı sıra, bir hastalığın varlığını virusun periferik bir bölgeden izolasyonu ile ilişkilendirmek zordur. Bu nedenle, interstisyel pnömonisi olan bağışıklığı baskılanmış hastaların idrarından CMV izolasyonu, bu hastalığın nedeninin CMV olduğunu göstermez. [35].

CMV, plasental proinflamatuvar sitokinler aracılığıyla sitopatik etki oluşturabilir ve böylece plasentada ve fetüste önemli fonksiyonları etkileyebilir. Virus anne monositlerinde kalırken, plasenta rezervuar ve bariyer görevi görür. Kalınlaşmış olan heterojen yapıdaki plasenta (kalsifiye plasentit) fetal enfeksiyonun ilk basamağıdır ve enfeksiyon daha sonra fetüse geçer. Önce CMV IgM ve sonrasında da CMV IgG pozitif olur [60]. CMV enfeksiyonunda bağışıklık oluşması reenfeksiyon olasılığını ortadan kaldırmadığından serolojinin yorumlanması zordur [61].

Belirli klinik tablolarda CMV enfeksiyonunun tanısını kolaylaştırmak için aşağıda belirtilen prosedürler önerilir:

1. Konjenital enfeksiyon: Hücre kültürü veya CMV DNA testi, doğumda veya doğumdan sonraki 1 ila 2 hafta içinde pozitifdir (Doğumda veya perinatal olarak enfekte olmuş, doğumdan 3-4 hafta sonrasına kadar virus atılımına başlamayan bebeklerden ayırt etmek için kullanılır).

2. Perinatal enfeksiyon: Doğum sırasında alınan klinik örneğin hücre kültürlerinde üreme olmamasına rağmen 4 hafta veya daha sonraki dönemlerde elde edilen pozitiflikler, natal veya erken postnatal enfeksiyonu düşündürür. Seronegatif bebekler de, kan transfüzyonu gibi eksojen yollarla CMV ile enfekte olabilirler.

3. Bağışıklık sistemi normal hastalarda CMV mononükleozu: CMV'ye özgü serokonversiyon ve IgM antikorunun varlığı, primer enfeksiyonun en iyi göstergeleridir. İdrar örneklerinde hücre kültürü pozitifliği CMV enfeksiyonu tanısını destekler, ancak pozitiflik aylar veya yıllar boyunca devam edebileceğinden geçmişte oluşmuş

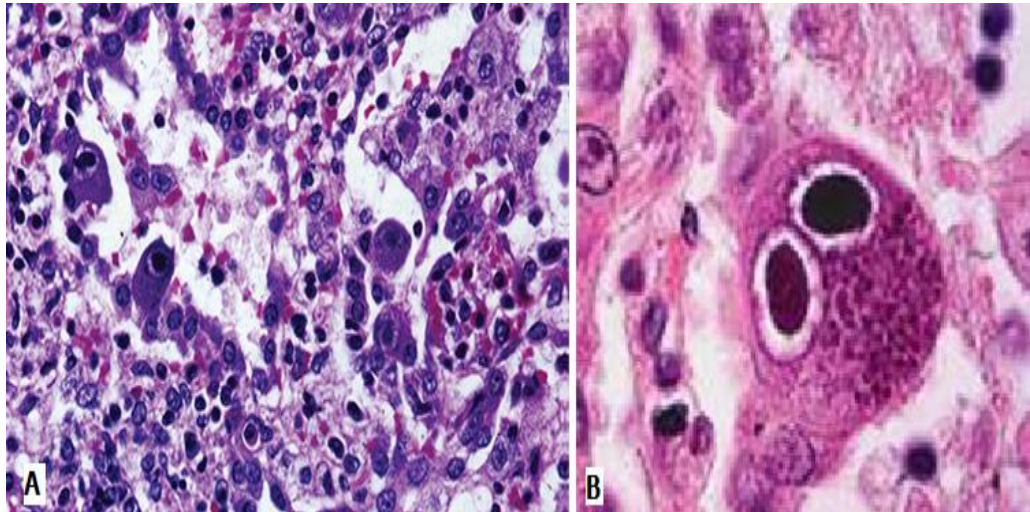
enfeksiyonu yansıtabilir. Bununla birlikte, CMV antijeni veya DNA'nın saptanması, bu hasta grubu açısından tanıda önem taşımaktadır.

4. İmmün sistemi baskılanmış hastalar: Enfekte dokuda (örneğin akciğerler, yemek borusu veya kolon) inklüzyonların veya viral antijenin gösterilmesi CMV enfeksiyonunun varlığını ortaya koyar, ancak diğer patojenler ekarte edilmediği sürece CMV'nin hastalığın nedeni olduğuna dair kanıt oluşturmaz. Serokonversiyon tanısaldır ancak özellikle AIDS hastalarında nadiren görülür, çünkü bu hastaların %95'inden fazlası HIV ile enfeksiyondan önce CMV açısından seropozitifdir. CMV'ye özgü IgM antikoru, özellikle virusun reaktivasyonu sırasında, immün sistemi baskılanmış transplant hastalarında görülmeyebilir. Bunun yanında, AIDS'li hastalarda bu antikor, klinik olarak önemli enfeksiyon olmadığında bile sıklıkla mevcuttur [35].

2.10.1. Direkt İnceleme

2.10.1.1. Histopatolojik Tanı

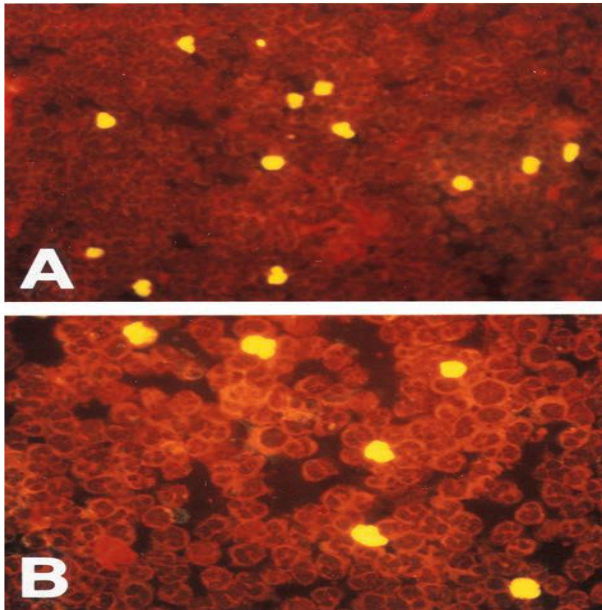
CMV enfeksiyonunun histolojik olarak ayırt edici özelliği, yoğun, merkezi, "baykuş gözü" şeklinde bazofilik intranükleer inklüzyon gövdesi içeren sitomegalik hücrelerin varlığıdır. Bu tür enfekte olmuş hücreler vücudun herhangi bir dokusunda veya idrarda bulunabilmekte ve bu hücrelerin epitel kökenli oldukları düşünülmektedir. İnküzyonlar Wright, Giemsa, Papanicolaou veya Hematoksilen-Eozin boyama yöntemleri ile kolayca görülebilmektedir (Şekil 2-8) [18, 62].



Şekil 2-8: A. İtranükleer inklüzyonların "baykuş gözü" görünümünü gösteren Cytomegalovirus ile enfekte hücreler [23], B. İnterstisyel pnömonili bir hastadan alınan akciğer dokusundaki dev hücrenin ışık mikroskopi (x480) [63].

2.10.1.2. Antijenemi Testi (pp65 Testi)

Antijenemi testi, CMV enfeksiyonu ve hastalığı olan hastaların polimorfnükleer lökositlerinde (PMNL) CMV'nin tegümentindeki alt matrix proteini olan fosfoprotein 65 (pp65)'i floresanla işaretlenmiş monoklonal antikorlar kullanarak saptama amaçlı yapılan bir immunfloresan testidir [64]. Bu yöntem, pp65 antijenini saptayan monoklonal antikorların, CMV'nin replikasyon döngüsünün erken dönemlerinde lökositlerde eksprese edilen "late" proteinin gösterilmesi prensibine dayanmaktadır. Klinik örnekteki PMNL'ler sitosantrifüj cihazı ile tek tabaka olarak yayılır ve lam üzerinde sitospin preparatı hazırlanır, daha sonra immün boyama yapılır (Şekil 2-9). PMNL'ye ait çekirdeklerin floresanla elma yeşili renginde boyanması pozitif sonuç olarak değerlendirilir ve sitospindeki hücre sayısına pozitif hücrelerin oranı şeklinde raporlanır [65]. Antijenemi, pozitif olarak belirlenmiş lökosit çekirdeğinin miktar tayini ile ölçülür. Bu yöntem, lökositlerde bulunan virusun tespiti ile sınırlıdır. Hasta sayısı az olan küçük laboratuvarlarda kullanıma uygundur. Bu yöntem, yeterli miktarda PMNL varlığına bağlı olduğundan, nötropenik hastalarda yalancı negatif sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Genellikle pp65 antijenemi testi kullanılacağında, klinik örneklerin, saklanıp daha sonra çalışılması uygun değildir, klinik örnek alındıktan sonra maksimum 6 saat içinde çalışılması zorunludur. Bu test, aktif virus replikasyonunu göstermekte ve CMV hastalığına ait semptomların hastalık başlamadan önce saptanabilmesine olanak sağlamaktadır [62].



Şekil 2-9: CMV antijeni-pozitif PMNL $\times 100$ (A) ve $\times 400$ (B) [19].

CMV antijenemi testi lökopenili hastalardaki sınırlılıkları sebebiyle artık klinik laboratuvarlarında yerini nükleik asit temelli testlere bırakmıştır.

2.10.1.3. Nükleik Asit Amplifikasyon Testleri

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

PCR gibi moleküler yöntemler, kandaki veya BOS gibi vücut sıvılarındaki spesifik CMV DNA'yı saptamak için kullanılabilir. Hedeflenen çeşitli genler glikoprotein B (UL55), DNA polimeraz (UL54) ve pp65 (UL83)'dir. RT-PCR yöntemi ile kantitatif nükleik asit testi oldukça duyarlı ve özgüldür, birçok laboratuvar da altın standart olarak tanımlanan kültür tekniğinin yerini almıştır. Viral DNA yükünü kantitatif olarak saptadığından dolayı tedavi yanıtını izlemek için tercih edilen bir yöntemdir [66].

PCR, nükleik asit amplifikasyonu esasına dayanan bir yöntem olup, geniş kullanım alanı olan duyarlı bir yöntemdir. PCR kalitatif veya kantitatif olarak da kullanılabilir. Yöntem, genellikle CMV DNA'nın korunmuş bölgelerindeki early ve late antijen genlerini hedeflemektedir. DNA, amniyotik sıvı, plazma, tam kan, idrar, doku biyopsi örnekleri, BOS, ve bronkoalveolar lavaj sıvısı (BAL) örneklerinden izole edilmektedir. RT-PCR, immun yetmezlikli hastaların monitörizasyonunda ve tedavi cevabının değerlendirilmesinde önemlidir. Testlerin standardizasyonu aşamasındaki sorunlar nedeniyle aynı klinik örnek için farklı laboratuvarlardan farklı sonuçlar gelebilmekte, bu durum uygun bir eşik değerin belirlenmesini zorlaştırmakta ve testlerin yorumlanmasını güçleştirmektedir. BOS, BAL ve doku biyopsi örnekleri ile tanısı gerçekleştirilen hastalarda klinik örnek tekrarındaki olumsuzluklar nedeniyle hastalığın prognozu ve tedavi cevabının değerlendirilmesindeki zorluklar bu testlerin dezavantajlarından [67].

Fetal enfeksiyonların prenatal tanısı, hamileliğin ilk yarısındaki primer enfeksiyon veya tanımlanmamış CMV enfeksiyonu olan kadınlarda uygulanabilir. Fetal anomaliler için ultrason muayenesi, virus için amniyotik sıvı kültürü ve amniyotik sıvı örneğinde CMV DNA'nın PCR yöntemi ile viral yük tayini yapılmalıdır. Düşük viral

DNA düzeyleri asemptomatik bir fetal enfeksiyonu akıla getirirken, viral yüklerin $>10^3$ kopya/mL olması CMV hastalığını düşündürür [68].

2.10.1.4. Direkt Saptama Yöntemleri

Elektron mikroskopisi, idrarda CMV'yi tanımlamak için kullanılmakta olup konjenital olarak enfekte bebeklerde viral kültür kadar duyarlıdır. Alınan örnekte bulunan viral yük önemlidir ve 10^4 kopya/mL altına indiğinde yöntemin duyarlılığı düşmektedir. Bu durum, yöntemin kullanımını kısıtlayan en önemli unsurdur ve klinik viroloji laboratuvarlarında rutin tanıda sık kullanılmamaktadır (Şekil 2-10) [69].



Şekil 2-10: CMV'nin elektron mikroskopi görüntüsü [69]

2.10.2. Virus İzolasyonu

2.10.2.1. Hücre Kültürleri

CMV, diploid fibroblast hücre kültürlerinde üretilir. Sitopatik etkinin (CPE) düşük viral yüke sahip klinik örneklerde çok yavaş gelişmesi sebebiyle, en az 4-6 hafta inkübasyon süresi gerekmektedir. CMV'nin izolasyonu, vücut sıvılarında yüksek viral yüke sahip olan, özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda duyarlı bir yöntemdir. Örneğin, AIDS'li hastaların sperminde, canlı virus titresi 10^6 'dan daha fazla olabilir. Hastalara ait klinik örnekler shell vial içindeki bir lamel üzerinde çoğaltılmış ve tam tabaka olmuş hücrelere santrifüjlendiği zaman, daha hızlı sonuçlar elde edilir. Örnekler, inkübasyon süresi sonunda, indirekt immun floresan yöntemi kullanılarak, 'en erken' viral antijenlerin bir yada daha fazlasının varlığı açısından değerlendirilir [18].

Hücre kültüründe insan fibroblast hücreleri kullanılarak CMV kan, biyopsi, BAL, BOS, idrar ve gibi örneklerden izole edilebilmektedir. CMV ile enfekte insanların çoğunda idrar yüksek miktarlarda enfeksiyöz virus partikülleri içerdiğinden dolayı hücre kültüründe çalışılması hem kolay hem de güvenlidir. Lökositlerin kültüre edilmesi ile gösterilen viremi, pek çok kişinin asemptomatik olmasına rağmen aktif hastalık ile ilişkili olduğunu gösterir.

Konvansiyonel kültür CMV'nin saptanmasında en geleneksel yöntem olmakla birlikte pek çok dezavantajları bulunmaktadır. CMV sadece insan diploid fibroblast hücre kültürlerinde ürerler ve bu hücre dizilerine örnek olarak WI-38 ve MA-184 verilebilir. Kan örneklerinde hücre kültürünün duyarlı olması CMV hastalığı tanısı için yetersizdir. Pozitif bir kan kültürü CMV için prediktif ve özgün olmakla birlikte, alınan diğer örneklerde virusun saptanması aktif CMV enfeksiyonunu göstermemeye, sadece virus varlığına işaret etmektedir.

Bu yöntemlerdeki yeni gelişmelerden biri de CMV'nin 72-kDa 'early' proteinine karşı monoklonal antikorların kullanılmasıdır. Bu antikorlar, virus saptama süresini 2-3 güne indiren Shell vial yönteminde kullanılmaktadır. Yöntemin kan örnekleri için duyarlılığı düşüktür.

İmmünohistokimyasal yöntemler primer olarak dokularda veya vücut sıvılarında uygulanmaktadır. Yöntem, erken CMV antikorlarına karşı monoklonal veya poliklonal antikorların uygulanması sonucu substrattaki değişimin floresan veya enzim işaretli antikorlarla gösterilmesi esasına dayanır. Fakat deneyimli personele gereksinim duyulması, sistemdeki otomatizasyon güçlüğü ve virusun fokal dağılımı sonucunda meydana gelen yalancı negatiflikler, yöntemin dezavantajlarıdır [67].

2.10.2.2. Serolojik Yöntemler

Serokonversiyon, genellikle primer CMV enfeksiyonu için önemli bir göstergedir. Klinik örneklerde antikor saptanmasında kullanılan birçok farklı yöntem olmasına rağmen rutin laboratuvarlarda genellikle enzim bağlantılı immünosorbent analizler (ELISA) kullanılır [70]. Akut CMV tanısında CMV IgM pozitifliği veya iki farklı serum örneğinde CMV IgG titresinin dört kat artışının görülmesi önem taşır. CMV IgG antikorunun araştırılması CMV enfeksiyonunun geçirilip geçirilmediğini belirlemek için kullanılır. Bununla birlikte, CMV IgM pozitifliği, CMV'nin

reaktivasyonu sırasında da görülebilir. Bu nedenle primer enfeksiyonun tanımlaması aşamasında güvenilir bir belirteç değildir [18].

CMV IgM antikorlarını ölçmek için ticari reaktifler, EIA (Enzim İmmunoassay) ve IFA (İndirekt İmmüno Floresan Antikor) tanı kitleri de mevcuttur ve bu kitler yenidoğanlar ve yetişkinlerde görülen CMV enfeksiyonlarının tanısında sıklıkla kullanılmaktadır. Yöntemler, katı fazda viral antijenlere bağlı CMV IgM'yi saptamak için işaretlenmiş CMV IgM antikorlarının kullanılması dışında, IgG antikorlarını da saptar. CMV IgM testi bazı olgularda nadiren yalancı pozitif veya yalancı negatif sonuçlar verebilir. CMV IgG'nin varlığında serum örneğinde yüksek seviyelerde romatoid faktör içerebileceğinden dolayı yanlış pozitif reaksiyonlar meydana gelir. Romatoid faktör, IgG ile reaksiyona giren, genellikle IgM sınıfından bir immünoglobulindir. CMV enfeksiyonu da dahil olmak üzere bazı romatolojik, vaskülitik ve viral hastalıklarda üretilir. IgM romatoid faktör, CMV IgG ile bir kompleks oluşturur. CMV IgG, beraberinde viral olmayan IgM'yi taşıyan CMV antijenine bağlanabilmekte; bu durumda, IgM'yi saptamak için tasarlanmış test ile yanlış pozitif sonuç elde edilebilmektedir. Yüksek titrelerde IgG antikorları, IgM'nin CMV antijenine bağlanmasını rekabetçi bir şekilde bloke ederse, yanlış negatif reaksiyonlar da meydana gelebilmektedir. Bu nedenle, hem yanlış pozitif hem de yanlış negatif IgM test sonuçlarının insidansını azaltmak için testten önce IgM ve IgG fraksiyonlarının ayrılması önemle tavsiye edilmektedir.

Antijenik substrat kaynağı olarak rekombinant olarak üretilmiş CMV proteinlerinin geliştirilmesi ve kullanılması CMV IgM testinin performansını büyük ölçüde arttırmıştır. CMV IgM'nin saptanması yeni veya aktif enfeksiyonun belirlenmesinde tanı konulmasına yararlı olsa da, sonuçların dikkatle yorumlanması gerekmektedir.

IgM plasentadan geçemediği için, enfekte yenidoğana ait tek bir serum örneğinden alınan pozitif sonuç tanıda önem taşır. Ancak yenidoğanda IgM üretiminde eksiklik veya gecikme söz konusu olabilir. IgM antikorları hem primer hem de rekürren CMV enfeksiyonlarında ortaya çıkabileceğinden ve primer enfeksiyondan sonra uzun süre devam edebileceğinden, yenidoğan döneminin sonrasında CMV IgM antikorunun varlığının tanısal amaçlı araştırılması genellikle önerilmez. Bu durum, özellikle hamile kadınlar veya bağışıklığı baskılanmış hastalar için test sonuçlarının yorumlanmasını

zorlaştırır ve yakın zamanda geçirilmiş veya aktif enfeksiyonu tanımlamayabilir. Bağışıklığı baskılanmış bireyler de IgM antikör yanıtı oluşturamayabilir. Epstein-Barr virusunun neden olduğu enfeksiyöz mononükleoz tablosu görülen hastalarda heterotipik IgM yanıtları oluşabileceğinden yanlış pozitif CMV IgM test sonuçları görülebilir. Erken gebelik döneminde CMV'ye ait serolojik sonuçların yorumlanması ve öneriler Tablo 2-4'te gösterilmiştir.

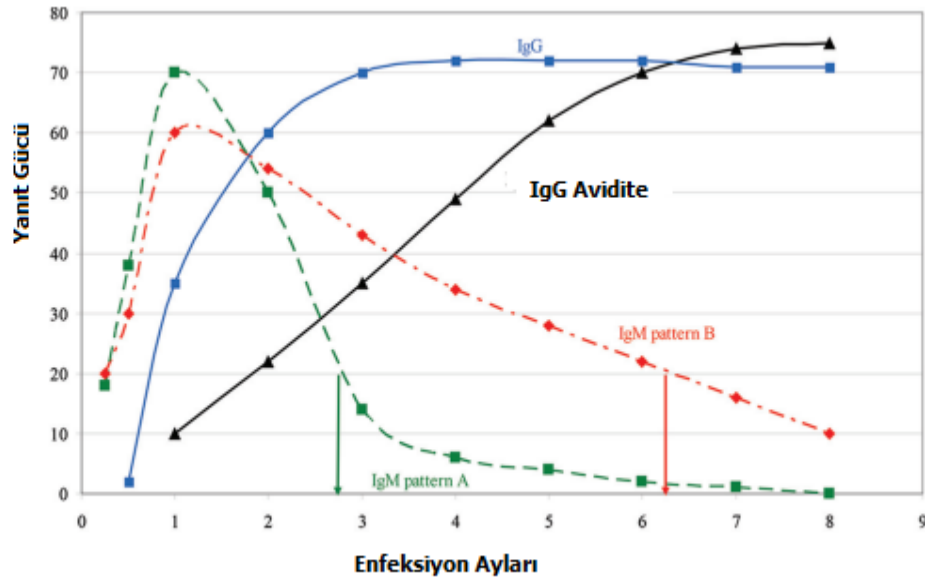
Tablo 2-4: Erken gebelik döneminde CMV'ye ait serolojik sonuçların yorumlanması [65]

CMV Antikorları	IgG Avidite	Yorum	Öneri
IgM (-) IgG (-)	Uygulanmaz	• Enfeksiyon yok veya çok erken enfeksiyon.	• Enfeksiyon riskini en aza indirmek için önleyici tedbirler hakkında danışmanlık önerilir.
IgM (+) ve IgG (-)	Uygulanmaz	• Diğer virus, otoimmün hastalıklar veya lab. metodlarına bağlı olarak yalancı pozitiflik (%90)	• İki hafta içinde tekrarlanması gerekir.
IgM (+) ve IgG (+)	Düşük	• Yeni enfeksiyon • Serokonversiyon primer enfeksiyon için önemli	• Olası sekeller, fetal enfeksiyon, tanı yöntemleri ve tedavi için danışmanlık önerilir.
IgM (+) ve IgG (+)	Yüksek	• Geçirilmiş veya rekürren enfeksiyon • IgG titrelerinde artış (en az iki kat) reaktivasyon veya reenfeksiyon göstergesi	• Düşük fetal enfeksiyon riski veya fetüs enfekte ise muhtemel sekeller için danışmanlık önerilir.
IgM (-) ve IgG (+)	Yüksek	• Geçirilmiş enfeksiyon • IgG titrelerinde artış olmaması reaktivasyon veya reenfeksiyonu yokluğunun göstergesi	• Düşük fetal enfeksiyon riski ve sekeller için danışmanlık önerilir. İleri testlere gerek yoktur.
IgM (-) ve IgG (+)	Düşük	• Belirsiz	

IgG Avidite Testi

CMV IgG avidite ölçümleri, gebelik sırasında CMV ile enfekte olmasından şüphelenilen kadınlarda ve solid organ nakli alıcılarında CMV enfeksiyonunun primer olup olmadığının ayrımını yapmada kullanılmaktadır. Düşük aviditeli CMV IgG, primer

enfeksiyonu izleyen ilk haftalar ile aylar arasında üretilirken, geçmiş veya primer olmayan enfeksiyonlarda (altıncı aydan sonra) giderek daha yüksek aviditeye sahip CMV IgG antikoru üretilir (Şekil 2-11). Anneye ait serum örneğinde CMV IgM'nin saptanması, CMV IgM pozitif olan hamile kadınların %10'undan daha azının doğuştan enfekte bir bebek doğurmasından dolayı, virusun fetüse bulaşmasını göstermez.



Şekil 2-11: Primer CMV enfeksiyonunu takiben zaman içinde CMV IgM, IgG ve IgG avidite seviyelerindeki değişiklikler [71].

IgM model A, tipik IgM yanıt modelini temsil ederken, IgM model B, uzun süreli IgM kalıcılığını temsil eder. CMV IgG avidite testi kullanılarak, doğru enfeksiyonun belirlenebileceği zamandan bu yana geçen süre; düşük avidite sonucu yaklaşık 3 ay önce birincil enfeksiyonu gösterirken, yüksek avidite sonucu 6 aydan daha önce primer enfeksiyonu gösterir [71].

Yapılan çalışmalarda, CMV IgM pozitif hamile kadınlarda düşük aviditeli CMV IgG antikoru sonuçlarının, yakın zamanlı primer CMV enfeksiyonu tanısını destekleyeceği ve fetal enfeksiyon açısından prognostik değeri olabileceği öne sürülmüştür [19]. Solid organ nakli alıcılarında, yüksek aviditeli CMV IgG antikorunun gelişimindeki gecikmenin, uzun süreli antijenemi ve kötü bir prognoz ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir. Günümüzde hem ticari hem de kullanıcı tarafından geliştirilen CMV IgG avidite testleri mevcuttur. Bu testler, düşük ve yüksek aviditeye sahip antikorları etkin bir şekilde ayırmak için geleneksel EIA protokollerinde basit modifikasyonlar yapılarak üretilmektedir [72, 73].

Tüm bu tanı testleri için avantaj ve dezavantajlar Tablo 2-5'te gösterilmiştir.

Tablo 2-5: CMV tanı testlerinin avantaj ve dezavantajları [74].

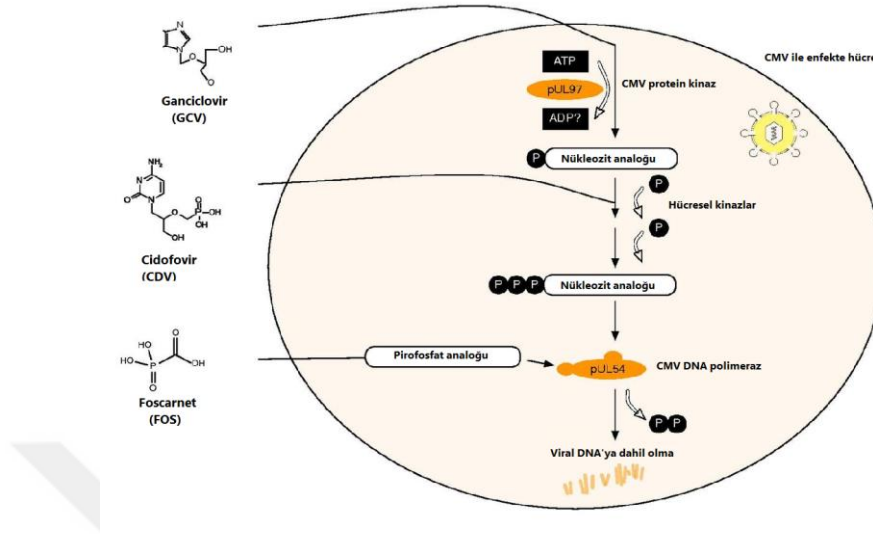
Tanı Metodu	Avantajları	Dezavantajları
Anti-CMV İmmunglobulinler	Latent CMV enfeksiyonu taramasında kullanılabilir.	Aktif enfeksiyonda düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir.
CMV PCR Testleri	Yüksek duyarlılık ve özgüllüktedir, altın standart kabul edilir. Çalışması hızlıdır, viral yük bilgisi verir ve çok çeşitli örnekler için kullanılabilir.	Tam kanda çalışılması daha iyidir. Kalitatif çok hassas olabilir ve zararsız viral yayılımın kantitasyonunda üstün olabilir.
CMV Antijen Testleri	Çalışması hızlı ve kolaydır, PCR ile karşılaştırılabilir duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir.	Lökopeni durumunda PCR'a göre daha düşük duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir.
Viral Kültür	Oldukça spesifiktir, çok çeşitli örneklerde uygulanabilir.	Zaman alıcıdır ve düşük hassasiyete sahiptir.
Histopatoloji	Oldukça spesifiktir. CMV enfeksiyonunu, patojeniteyi ve invazivliği doğrular.	İnvazivdir, duyarlılığı düşüktür. Numune alma hatası meydana gelebilir, uzman bir patoloğa ihtiyaç duyulur.

2.11. Tedavi

Gansiklovir (dihidroksipropoksimetil guanin), valgansiklovir (gansiklovirin valil esteri), sidofovir ve foskarnet (fosfonoformik asit), bağışıklığı baskılanmış hastaların CMV enfeksiyonlarından kaynaklanan spesifik hastalıkların tedavisi için FDA (Food and Drug Administration; Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanmıştır.

Gansiklovir, yapısal olarak asiklovire benzer; CMV tarafından kodlanmış bir protein kinaz tarafından fosforile edilir ve sonrasında aktive olur ve daha sonra viral DNA polimerazı inhibe eder. Gansiklovir, asiklovirden daha toksiktir. Valgansiklovir, ağızdan alınabilen, karaciğerde gansiklovire dönüştürülen ve gansiklovirden daha iyi biyoyararlanımı olan gansiklovir öncülü bir ilaçtır. Sidofovir, aktivasyonu için viral bir enzim gerektirmeyen, fosforile edilmiş bir sitidin nükleozid analogudur. Foscarnet,

nükleotid trifosfatların pirofosfat kısmını taklit ederek viral DNA polimerazı inhibe eden basit bir moleküldür (Şekil 2-12) [18, 75].



Şekil 2-12: Anti-HCMV ilaçlarının CMV ile enfekte hücreye etki mekanizması [76]

2.12. Korunma

CMV esas olarak cinsel temas, doku nakli ve transfüzyon yollarıyla yayılır. Semen, CMV'nin hem heteroseksüel hem de eşcinsel temaslara cinsel olarak yayılması için önemli bir vektördür. Prezervatif kullanımı veya cinsel ilişkiden kaçınılması viral yayılımı sınırlamaktadır. Virusun bulaşması, potansiyel kan ve organ donörlerinin CMV seronegatifliği açısından taranması yoluyla da azaltılabilir. Yenidoğanlara verilecek kan nakli bağışçıları için tarama özellikle önemlidir. CMV'nin konjenital ve perinatal geçişi etkili bir şekilde önlenemese de, seropozitif bir annenin semptomatik CMV hastalığı olan bir bebek doğurma olasılığı oldukça düşüktür [18].

2.12.1. Aşı

Gebelik esnasında primer CMV enfeksiyonu olan kadınlarda transplasental bulaş, sekonder maternal CMV enfeksiyonu sonrasında meydana gelen bulaştan 10-25 kat daha fazla görülmektedir. Ayrıca semptomatik konjenital CMV enfeksiyonunun sadece anne primer CMV enfeksiyonunu takiben meydana geldiğinin düşünülmesi ve semptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan çocukların çoğunluğunda nörolojik sekel geliştiğini gösteren bulguların olması gebelik esnasında primer CMV enfeksiyonunu önlemeye yönelik aşı geliştirme stratejilerine öncülük etmiştir [77].

Aşılamamanın amacı, konjenital enfeksiyonun ciddi komplikasyonlarını önlemek ve immünokompromize hastaları primer CMV enfeksiyonundan korumaktır. Hiç gebelik geçirmemiş genç kadınlar ve transplantasyondan öncesi organ allograft alıcıları aşılamada hedef olan iki önemli gruptur [78, 79].

Koruma hem doğuştan gelen (NK) hem de adaptif (CD4+ ve CD8+ T hücresi, virüs nötralize edici antikor) yanıtları gerektirmektedir. Bugüne kadar klinik deneylerde değerlendirilen aşılar, genellikle, virus tarafından kodlanan birkaç temel bağışıklık hedefine karşı hümmoral ve T hücre aracılı cevabı ortaya çıkarmaya odaklanmıştır. Genel olarak, buna iki farklı strateji ile yaklaşmıştır: canlı, atenüe (veya replikasyonu engellenmiş) aşılar; veya subunit aşılar (spesifik CMV rekombinant proteinlerin ve/veya peptitlerin kombinasyonlarına veya ilgili bu immünojenleri eksprese eden vektörlü aşılar) [80].

CMV aşısı stratejilerinde, gB, pp65 ve IE1 proteinleri potansiyel hedef olarak belirlenmiş ve bu proteinler zayıflatılmış CMV Towne izolatu, antijenleri ve epitoplari kodlayan rekombinant viral vektörler, subunit aşılar ve DNA aşıları da dahil olmak üzere çok sayıda farklı alanda denenmiştir [78, 79, 81].

2.12.1.1. Zayıflatılmış CMV Aşıları

CMV aşısı geliştirmeye yönelik ilk çalışmada, doku kültüründe pasajı yapılan zayıflatılmış virus suşları kullanılmıştır. Bu tür aşılari ilki, yüksek oranda klinik izolattan pasajlanan “AD169” suşundan köken almıştır. 1970'lerin başında AD169 aşısı [82] ile gönüllüler üzerinde sınırlı çalışmalar yapılmış, ancak bu aşısı daha fazla geliştirilememiştir. Aşısı geliştirmede zayıflatılmış Towne suşu, doğuştan enfekte bir bebekten izole edilmiş ve 125. pasaja kadar insan embriyo fibroblastlarında üretilebilmiştir. Hem AD169 hem de Towne suşlarında, çerçeve kayması mutasyonları meydana gelmiştir [83]. Bu mutasyonlara rağmen, Towne aşısının intramüsküler veya subkutan uygulamasına ilişkin çalışmalar sonucunda, gönüllülerin yaklaşık %100'ünde serokonversiyon görülmüştür. Tükürük, idrar veya kandan hiçbir aşısı virüsü elde edilmediğinden, Towne aşısının oldukça zayıflatılmış olduğu ve bu nedenle insanlarda kullanımının uygun olduğu düşünülmüş, ancak yetersiz immünojenisite hakkında sorular gündeme gelmiştir. Towne aşısının immünojenisitesini iyileştirmeye yönelik, rekombinant insan interlökin 12 (rhIL-12) ile birlikte uygulanması, pp65, IE1 ve gB içeren plazmit VCL-CT02 ile bağışıklama gibi çalışmalar yapılmıştır [84-86].

2.12.1.2. Subunit aşılar

Şimdiye kadar çalışılan çoğu subunit aşıları özellikle yüzey glikoproteini olan gB'ye odaklanmıştır. gB proteini, CMV'nin doğrudan fibroblast hücrelere tutunmasında rol almaktadır ve seropozitif plazmada bulunan antikorları etkisizleştirmede önemli bir hedef niteliğindedir [87].

CMV subunit aşıları 4 genel kategori altında toplanmıştır.

1. gB proteininin rekombinant formlarına dayanan adjuvanlanmış rekombinant protein aşıları
2. Tegument proteini, UL83 (pp65) ve viral veya nükleik asit bazlı vektörler kullanılarak oluşturulan 'erken protein 1' (IE1) ile kombinasyon halinde gB bazlı aşılar
3. CMV gen ürünlerinin kombinasyonlarını ifade eden virus benzeri partiküllerin (VLP) üretilmesine dayanan aşılar
4. CMV hastalığına karşı korumada önemli olan T hücre epitoplarına (genellikle UL83'ten) dayalı peptit bazlı aşılar.

Saflaştırılmış rekombinant gB subunit aşıları:

Adjuvanlanmış, rekombinant gB formülasyonlarını kullanan subunit aşı yaklaşımları, klinik deneylerde tartışmasız en ileri seviyeye ulaşmıştır. İlk olarak influenza aşılarında kullanılan adjuvan 59 (MF59) içinde bir rekombinant CMV gB proteini kullanan birkaç faz I ve faz II klinik çalışması tamamlanmıştır [88]. Çoğu çalışmada, 0, 1 ve 6. ayda uygulanan üç dozluk aşılama serisi kullanılmıştır. Bu aşı, CMV-seronegatif gönüllülerde [89] değerlendirilmiş ve güçlü immünojenisite göstermiştir. Çeşitli büyük ilaç üreticileri de, yakın gelecekte uygulanması muhtemel "yeni nesil" gB alt birim aşılarını değerlendirmeyi planlamaktadır [23].

Zarflı virus benzeri partikül aşılar:

Zarflı virus benzeri partiküller (eVLP'ler) vahşi tip (wild type) virus partiküllerini taklit eder ancak viral genomu olmadığından güvenlidir. CMV gB'yi eksprese eden eVLP aşısı, günümüzde CMV-seronegatif deneklerde klinik araştırma aşamasındadır [90]. VBI-1501A olarak adlandırılan aşı, adjuvan olarak alüminyum içeren ve içermeyen dört farklı doz formülasyonunun güvenlik ve immünojenisite

açısından değerlendirilme aşamasındadır. Ön veriler, gönüllülerde nötralize edici antikorların indüklenmesi dahil olmak üzere güçlü bir immünojenisiteyi amaçlamaktadır.

CMV vektör aşıları:

Klinik çalışmalarda değerlendirilen ve "vektörlü" CMV aşısı olarak adlandırılan aşılarla, viral immünojenler ile ilgili geni taşıyan virusların heterolog "vektörlere" dahil edilmeleri yoluyla eksprese edilirler. Kullanılan yöntemlerden biri, memeli hücrelerinde abortif olarak çoğalan bir kuş çiçeği virusu olan canarypox'a dayanmaktadır. İki canarypox aşısı, bu platform aracılığıyla gönüllülere gB (ALVAC-CMV [vCP139]) veya pp65 (ALVAC-CMV [vCP260]) subuniti sağlamıştır [91, 92]. CMV için kullanılan bir başka vektörlü aşı yaklaşımı, Venezuela at ensefaliti (VEE) virusu olan alfa virusuna dayanmaktadır [93, 94].

Bu strateji kullanılarak oluşturulan virus benzeri partiküller replikasyon açısından yetersizdir, ancak hayvan modellerinde [95] ve insan gönüllülerinde yapılan faz I çalışmalarında [96] kapsamlı değerlendirmeye alınmıştır. Bu aşının gelecekteki çalışmaları için planlar şu anda belirsizdir. Bir başka vektörlü CMV subunit aşısında, zayıflatılmış rekombinant lenfositik koriomenenjit virusu (LCMV) [97, 98] kullanılmaktadır. LCMV vektörlü aşılar, güçlü sitotoksik T lenfosit (CTL) ve CD4+ T hücre tepkilerinin yanı sıra yüksek seviyelerde nötralize edici antikor ortaya çıkarabilmektedir [98].

Modifiye aşı virusu Ankara (MVA), pp65, gB, IE1, IE2 ve PC proteinleri dahil olmak üzere çeşitli CMV antijenlerini tanımlamak için kullanılmıştır. "Triplex" olarak adlandırılan vektörlü MVA aşısı, CMV'ye karşı koruyucu hücre aracılı bağışıklık ile ilişkili üç immünodominant T hücre antijenini kodlamak için yapılmıştır: UL83 (pp65), UL123 (IE1-ekson4) ve UL122 (IE2- ekson5). Bu aşı çalışmasının birincil amacı, hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HSCT) alıcılarında CMV hastalığına karşı koruma sağlamak olduğundan, bu aşının çocuk doğurma yaşındaki kadınların konjenital CMV bulaşmasına karşı korunmasıyla ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir [23].

Nükleik asit bazlı CMV aşıları:

Nükleik asit bazlı CMV aşıları, iki farklı yol kullanılarak gönüllü insanlarda geliştirilmiş ve test edilmiştir:

1. Anahtar immünojenlerin DNA molekülleri (tipik olarak, bir immünoestimülatör adjuvanlı rekombinant plazmitler)
2. RNA molekülü ekspresyonu.

Günümüze kadar yapılan çalışmaların büyük bölümü DNA aşıları ile ilgilidir. Bu CMV DNA aşıları, HSCT ve solid organ nakli hastalığında oluşabilecek CMV hastalığı tablosunu iyileştirme veya önleme hedefine odaklanmıştır. [99, 100]. ASP0113, CMV enfeksiyonunun önlenmesi için üretilen ilk bivalan DNA aşısıdır. Faz II çalışmasında plaseboya göre CMV viremisinin gelişimini ve rekürrensini anlamlı ölçüde azalttığı ve viremi atağı gelişimine kadar olan süreyi uzattığı görülmüştür [95]. ASP0113 faz III çalışmasında olup nakil sonrası 5.5 yıllık takip sonuçları yayınlanacaktır. Çalışma aşamasında olan diğer aşılardan ise solid organ transplantasyonu alıcılarında çalışmaları devam etmekte olup, MF59 ve CMV monoklonal antikoru olan CSJ148'dir [95].

Başka bir aşı adayı, gB ve pp65'e ek olarak IE1'den ekson 2 ve 4'ü içeren adjuvanlanmamış DNA aşısıdır (VCL-CT02). Bu aşı, konjenital CMV enfeksiyonuna karşı geliştirilmiştir. Gönüllü insanlarda, VCL-CT02 plazmidi ile (intradermal veya intramüsküler olarak) aşılanmış denekler daha sonra zayıflatılmış Towne aşısı ile "güçlendirilmiş" bir "prime-boost" formatında test edilmiştir.

Nükleik asit bazlı CMV aşı stratejilerinden biri de, gen ekspresyon platformu olarak DNA' değil RNA'yı kullanmasıdır. Bu yöntem, "kendi kendini çoğaltan" bir mRNA aşı platformuna dayanmaktadır. Platform, CMV immünojenlerinin ekspresyonu için kullanılmış ve üretici tarafından aşı adayı mRNA-1647 olarak belirlenmiştir. mRNA-1647 aşısı şu anda faz I klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir. Farelerin ve insan olmayan primatların, ilgili aşı genlerini kodlayan bu RNA moleküllerini kapsülleyen lipid nanoparçacıkları ile bağışıklaştırıldığı bu aşının klinik öncesi çalışmaları, güçlü immünojenisite göstermiştir [98]. Mevcut faz I klinik çalışmaları, mRNA-1647'nin güvenliğini ve immünojenisitesini değerlendirme hedefiyle, CMV seronegatif kadınlarda yürütülmekte olan randomize, plasebo kontrollü, doz aralıklı

çalışmalardır. UL83 proteinini hedefleyen mRNA-1443 olarak adlandırılan ikinci bir aşı da geliştirilmiştir, ancak klinik açıdan değerlendirilmesi konusu henüz netlik kazanmamıştır [98].

Peptit aşılar:

Şu anda klinik deneylerde olan diğer CMV aşıları, çoğunlukla HSCT alıcılarının korunmasına odaklanmıştır ve konjenital CMV enfeksiyonuna karşı koruma etkisi belirsizdir. pp65'e özgü CTL yanıtlarının HSCT hastalarını CMV hastalığından koruyabildiği bilinmektedir ve bu gözlem peptit bazlı aşılarda geliştirilmesine yardımcı olmuştur.

Poliepitop aşının, yeterince T hücre epitopunu kapsamaması durumunda, konjenital CMV enfeksiyonlu popülasyon için aşı olarak kullanılmasının uygun bir seçenek olabileceği düşünülmektedir [101].

Transplasental CMV geçişini önlemek için aktif bağışıklama ile pasif bağışıklamanın sonuçları karşılaştırıldığında, pasif bağışıklamanın immünojenisite açısından daha başarılı olduğu görülmüştür. Bu subunit temelli yaklaşımlar gelişim gösterirken aynı zamanda zayıflatılmış CMV aşılarının immünojenisitesinin de optimizasyonu bildirilmiştir [84, 100, 101].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmamızda, 2020-2022 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniklerine başvuran konjenital anomali saptanan gebelere ait maternal serum ve amniyotik sıvı örnekleri İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında CMV yönünden değerlendirilmiştir. CMV enfeksiyonu için amniyotik sıvı örneklerinde CMV DNA varlığı RT-PCR yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca alınan kan örneklerinde ELISA yöntemi ile CMV IgM, CMV IgG, CMV IgG Avidite testleri çalışılmıştır.

Çalışmaya 19-45 yaş aralığında anomali ön tanısıyla İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniklerine başvuran gebeler dahil edilmiştir. Amniyotik sıvı ve serum örnekleri eş zamanlı alınmıştır.

3.2. Gereçler

- Triturus cihazı (Grifols, Spain)
- QIASYMPHONY SP-AS cihazı (QIAGEN, Almanya)
- RT-PCR cihazı (Rotor-Gene Q Cihazı, Almanya)
- CMV ELISA IgM (Vircell, Granada, Spain) Kiti
- CMV ELISA IgG (Vircell, Granada, Spain) Kiti
- Artus® CMV QS-RGQ RT-PCR Kiti (QIAGEN, Almanya)
- Dilüsyon tüpü
- Santrifüj (Rotuna38)
- Eppendorf tüpü (1.5 mL)
- Pipet ucu (20, 200, 1000 ul)
- Buzdolabı (Bosch, Almanya)

3.3. Yöntemler

3.3.1. CMV IgM ve CMV IgG ELISA Testi

Hasta serumları ticari CMV ELISA IgM (Vircell, Granada, Spain) ve CMV ELISA IgG (Vircell, Granada, Spain) kitleri kullanılarak, kit kullanım prosedürüne uygun şekilde Triturus cihazında (Grifols, Spain) çalışılmıştır.

CMV IgG testinin çalışma prensibi, ATCC VR-538 suşuna ait antijenle kaplı polistren yüzeyler ile test edilen serum içindeki antikorların reaksiyonuna, CMV IgM ELISA testinin çalışma prensibi ise polistren yüzeyinde adsorbe edilen anti-IgM antikorları ile numunedeki IgM'nin yakalanması esasına dayanmaktadır. Bağlanmayan immunoglobulinler yıkama ile uzaklaştırılır. İkinci aşamada anti-humanglobulin antijen-antikor kompleksine bağlanmaktadır ve substrat ilave edilip inkübasyon sonunda renk değişimi gözlenmektedir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Pozitif, Negatif ve Cut-off kontrolleri test ve kitin çalışmasını değerlendirmek için uygulanmıştır. Optik Dansite (O.D) değerleri Tablo 3-1'de verilen aralıklar ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Tablo 3-1: Optik Dansite değerleri

İndeks	Değerlendirme
< 9	Negatif
9-11	Ara Değer
>11	Pozitif

3.3.2. CMV IgG Avidite Testi

1. 8 IU/mL'den daha düşük IgG içeriği gösteren örnekler 1:51 (10ul + 500ul) oranında seyreltilmiştir. 8 IU/mL'den daha yüksek IgG içeriği gösteren örnekler ise 1:251 (10ul + 2500ul) ve 1:501 (10ul + 5000ul) oranında seyreltilmiştir. Kontroller kullanıma hazır oldukları için seyreltilmemiştir.

2. Körlleme işlemleri için A1 kuyucuğu boş bırakılmıştır. Kontroller ve örnekler aşağıdaki tabloya göre kuyucuklara dağıtılmıştır.

Tablo 3-2: Kontrol ve örneklerin kuyucuklara dağıtılan miktarları

A1	Kör Kuyucuk
B1, C1	100 ul Negatif Kontrol
D1	100 ul Pozitif Kontrol
E1, F1	100 ul Örnek 1
G1, H1	100 ul Örnek 2
A2,..., H12	Diğer örnekler

- Kontroller ve örnekler dağıtıldıktan sonra, mikropalak plaka kapatıcı ile kapatılmış ve şeritler 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
- Plak kapatıcı soyulmuş ve mikropalak talimatlara göre yıkanmıştır.
- Her örneğe ait ilk kuyucuğa (örnek: E1,G1,...) 200 ul Fizyolojik Tampon A dağıtılmıştır. Diğer bitişik kuyucuklara (F1,H1,...) 200 ul Denatürasyon Solüsyon B dağıtılmıştır. Son olarak Kontrollerin kuyucuklarına 200 ul Fizyolojik Tampon A dağıtılmıştır.
- Daha sonra üstü kapatılan mikropalak 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Talimatlara göre yıkanmıştır.
- A1 hariç tüm kuyucuklara 100 ul Tracer eklenmiştir. Üstü kapatılan mikropalak 30 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir.
- Plak kapatıcı soyulmuştur ve mikropalak talimatlara göre yıkanmıştır.
- A1 dahil tüm kuyucuklara 100 ul Kromojen/Substrat karışımı eklenmiştir. Mikropalak ışıktan korunarak oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir.
- Tüm kuyucuklara 100 ul Stop solüsyonu eklenmiştir. A1 kuyucuğu boşaltılarak 450nm ve 620-630nm'de mikropalak okutulmuştur.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Pozitif ve Negatif kontroller test ve kitin çalışmasını değerlendirmek için uygulanmıştır. Enfeksiyonun akut ya da kronik ayrımı için Tablo 3-3'te verilen verilere göre değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 3-3: CMV IgG Avidite testi sonucu akut veya kronik enfeksiyon yorumlama tablosu

İndeks	Avidite	Yorumlama
>0,2	Yüksek	Kronik enfeksiyon
<0,2	Düşük	Akut enfeksiyon

3.3.3. CMV-DNA PCR Testi

3.3.3.1. CMV DNA Viral Yük Belirlenmesi

Amniyotik sıvı örneklerinde CMV DNA kantitatif testi için ekstraksiyon işlemi QIASYMPHONY SP-AS (QIAGEN, Almanya) cihazında ve Artus® CMV QS-RGQ Kit (QIAGEN, Almanya) kiti kullanılarak da amplifikasyon ve kantitasyon işlemleri Rotor-Gene Q (QIAGEN, Almanya) cihazında, RT-PCR yöntemiyle çalışılmıştır. Kitin analitik duyarlılığı 79.4 kopya/mL olup, kit içinde yalancı negatifliklerin belirlenebilmesi için internal kontrol bulunmaktadır ve internal kontrol, her örneğe ekstraksiyondan önce eklenmiştir.

Tablo 3-4: CMV DNA PCR karışım miktarları

Mastermix	25 ul
Magnezyum (Mg)	5 ul
Toplam	30 ul

Tablo 3-4'de verilen PCR için gerekli olan karışım miktarları propektüs içerisinde belirtilmiş ve her bir hasta için hazırlanmıştır. Bu karışıma ek olarak 20 µl

klirik örnekler eklenmiş ve PCR tüpleri cihaza yüklenerek standart değerleri girilip Rotor-Gene Q cihazı prospektüse uygun olarak başlatılmıştır. Rotor-Gene Q cihazında denatürasyon ve amplifikasyon döngü tablosu Tablo 3-5'te belirtilmiştir.

Kantitasyon standartları

Standart 1: 1800 kopya/mL

Standart 2: 18000 kopya/mL

Standart 3: 180000 kopya/mL

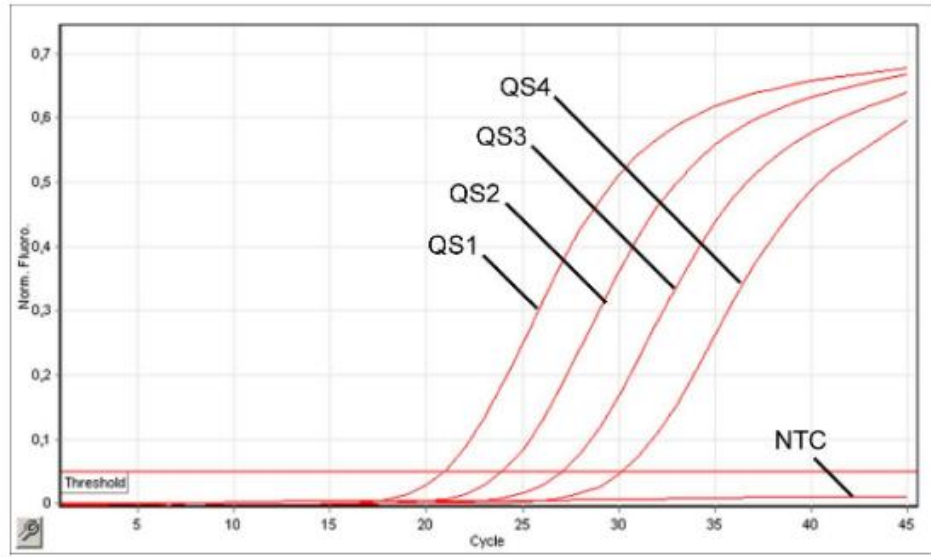
Standart 4: 1800000 kopya/mL

Tablo 3-5: Rotor-Gene Q cihazında denatürasyon ve amplifikasyon döngü tablosu

Aşama	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95	10:00	1
Denatürasyon	95	00:15	45
Primer Bağlanma	65	00:30	
Sentez	72	00:20	
Sonsuz İnkübasyon	22		

3.3.3.2. CMV DNA Viral Yük Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Floresans kanalı Cycling Green içinde bir sinyal saptandığında analizin sonucu pozitifdir: klinik örnek CMV DNA içermektedir. Floresans kanalı Cycling Green içinde sinyal saptanmadığında ve aynı zamanda Cycling Yellow kanalında internal kontrolden bir sinyal belirdiğinde klinik örnek CMV DNA içermemektedir.



Şekil 3-1: Floresans kanalı Cycling Green içinde kantitasyon standartlarının (CMV QS 1-4) saptanması (NTC: Negatif Kontrol)

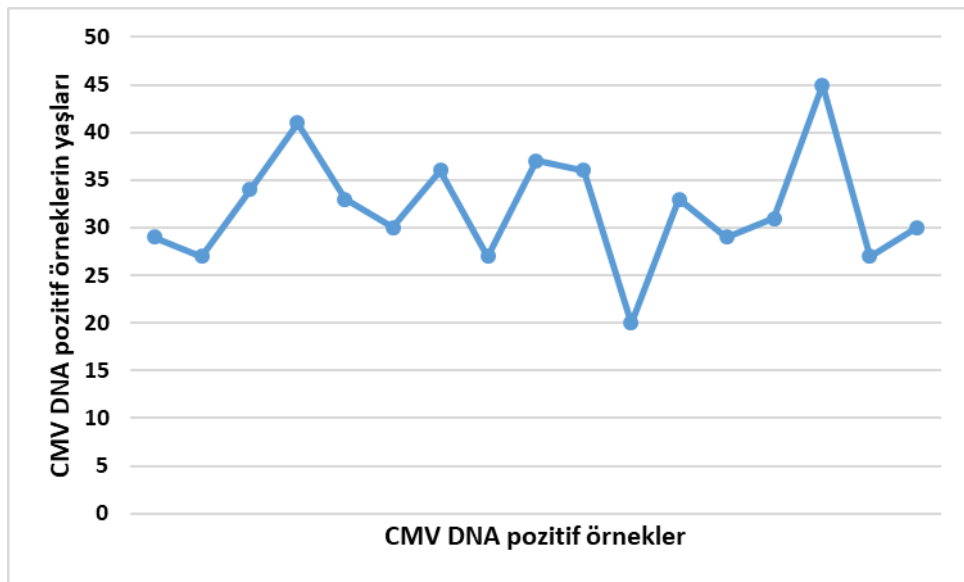
Örneklerin internal kontrolünün çalışıp çalışmadığı kontrol edilmiş ve eşik çizgisini aşmış olan örnek eğrileri pozitif kabul edilmiştir. Böylece kantitatif hasta sonuçları elde edilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan standart eğri grafiği Şekil 3-1’de gösterildiği gibidir.

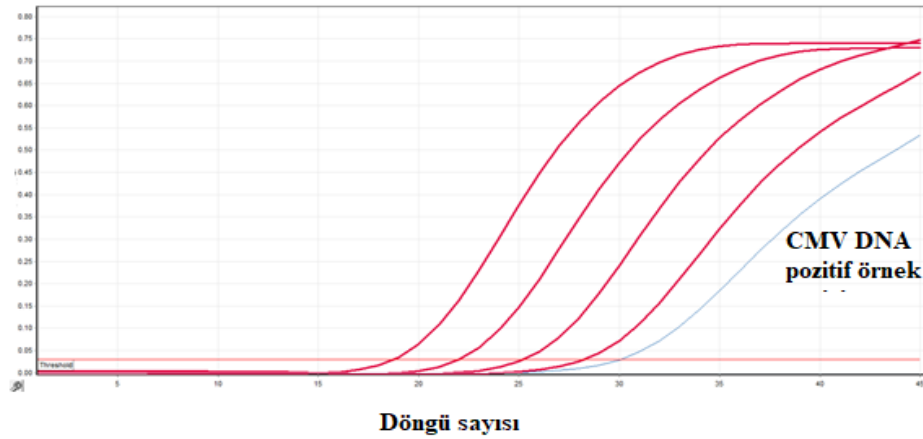
4. BULGULAR

Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniklerine başvuran 19-45 yaş aralığında ve konjenital anomali saptanan 141 gebe kadından alınan serum ve amniyotik sıvı örnekleri incelenmiştir. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında ELISA yöntemi ile IgM ve IgG antikor tespiti ve IgG avidite testleri yapılmıştır. Gebelere ait serolojik test sonuçları değerlendirildiğinde 141 hastada (%100) CMV IgG pozitif, 139'unda (%98,58) CMV IgM negatif ve 2 gebede (%1,41) CMV IgM şüpheli pozitif bulunmuştur. Şüpheli pozitif örneklerde CMV IgG avidite testi sonucunda maternal serumda düşük avidite saptanmıştır. Amniyotik sıvı örneklerinde ise CMV DNA varlığı İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında RT-PCR yöntemi ile araştırılmıştır.

CMV DNA kantitatif viral yük sonuçları değerlendirildiğinde ise 17 gebede (%12,05) pozitiflik saptanmıştır. Şekil 4-1'de CMV DNA pozitif örneklerin yaşlarının dağılım grafiği ve Şekil 4-2'de CMV DNA saptanan bir örneğin ve kantitasyon standartlarının eğrilerinin grafiği görülmektedir.



Şekil 4-1: CMV DNA pozitif örneklerin yaş gruplarındaki dağılım grafiği



Şekil 4-2: CMV DNA saptanan bir örneğin ve kantitasyon standartlarının eğrileri

CMV DNA negatif olan 124 hastada ortalama yaş 31,80, CMV DNA pozitif 17 hastada yaş ortalaması 32,05 olup aralarında istatistiksel öneme sahip farklılık görülmemektedir.

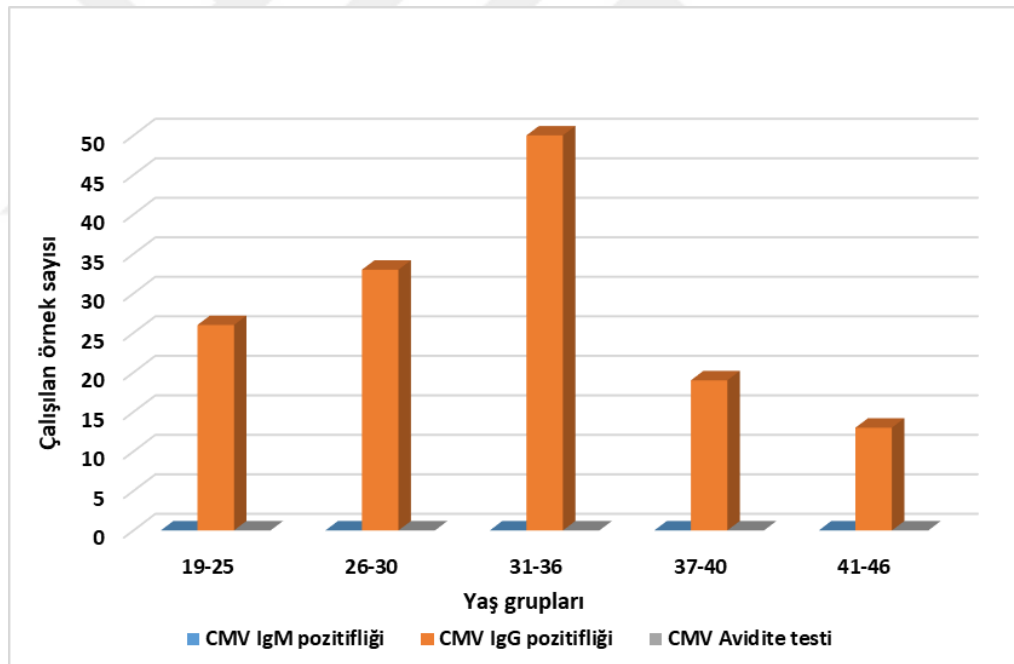
Çalışmamızda normallik analizi sonucunda yaş ile CMV IgG arasında negatif yönde 0,15 katsayılik düşük düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan korelasyon saptanmıştır.

Çalışmamızda 19-25 yaş grubu arasında CMV DNA negatif 25 (%96,1), CMV DNA pozitif 1 (%3,9) örnek, 26-30 yaş grubu arasında CMV DNA negatif 26 (%78,7), CMV DNA pozitif 7 (%21,3) örnek, 31-36 yaş grubu arasında CMV DNA negatif 44 (%88), CMV DNA pozitif 6 (%12) örnek, 37-40 yaş grubu arasında CMV DNA negatif 18 (%94,7), CMV DNA pozitif 1(%5,3) örnek, 41-46 yaş grubu arasında CMV DNA negatif 11 (%84,6), CMV DNA pozitif 2 (%15,4) örnek bulunmuştur.

CMV enfeksiyonunun akut veya kronik ayrımı CMV IgG Avidite testi ile yapılmıştır.

Tablo 4-1: CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG Avidite testlerine ait pozitifliklerin yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları	CMV IgM pozitifliği		CMV IgG pozitifliği		CMV IgG Avidite	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
19-25	-	%0	26	%18,4	-	%0
26-30	1 (şüpheli pozitif)	%0,7	33	%23,4	1 (Düşük Avidite)	%0,7
31-36	1 (şüpheli pozitif)	%0,7	50	%35,4	1 (Düşük Avidite)	%0,7
37-40	-	%0	19	%13,4	-	%0
41-46	-	%0	13	%9,2	-	%0

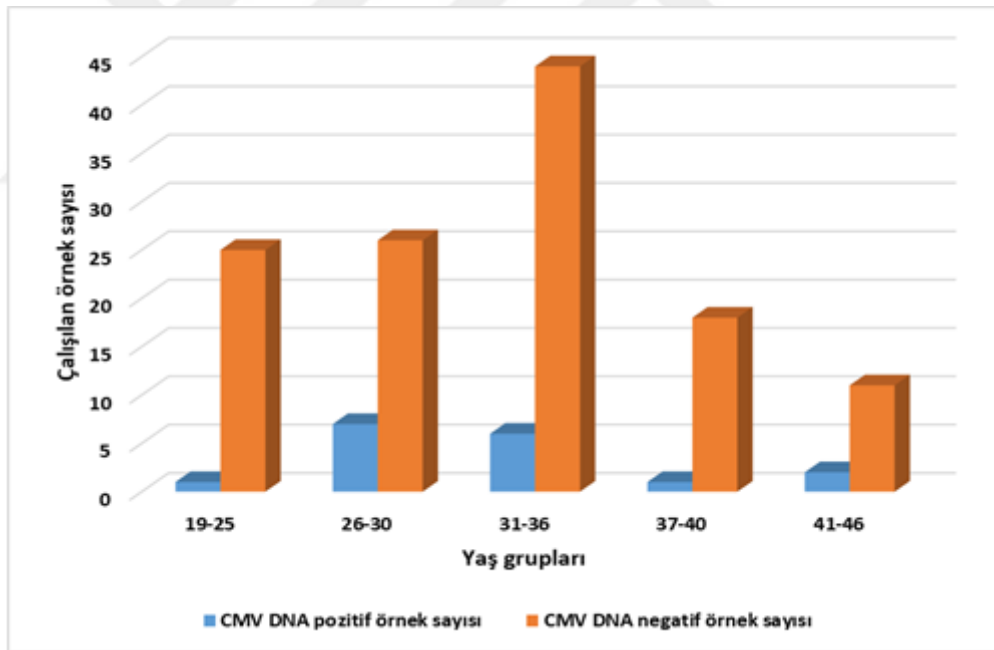


Şekil 4-3: CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG Avidite testleri pozitifliğinin yaş grupları arasındaki dağılım grafiği

Tablo 4-2: Amniyotik sıvı örneklerinde CMV DNA PCR testinin yaş gruplarındaki dağılımı

Yaş grupları	CMV DNA			
	Negatif		Pozitif	
	n	(%)	n	(%)
19-25	25	%96,1	1	%3,9
26-30	26	%78,7	7	%21,3
31-36	44	%88	6	%12
37-40	18	%94,7	1	%5,3
41-46	11	%84,6	2	%15,4

Yaş gruplarının CMV DNA pozitifliği değerlendirildiğinde yaş grupları arasında istatistiksel öneme sahip bir farklılık yoktur ($p>0.05$). Amniyotik sıvı örneklerinde CMV DNA PCR testinin yaş gruplarında dağılımının tablosu Tablo 4-2’de ve CMV DNA pozitifliğinin yaş grupları arasındaki dağılım Şekil 4-4’te gösterilmiştir.



Şekil 4-4: CMV DNA pozitifliğinin yaş grupları arasındaki dağılım grafiği

5. TARTIŞMA

CMV, diğer Herpesviridae üyeleriyle benzer morfolojik, yapısal ve genomik özelliklere sahip bir Betaherpesvirustur. Enfekte ettikleri hücrede baykuş gözüne benzeyen nükleer inklüzyon, sitoplazmik inklüzyon ve sitomegali meydana getirmektedir. Gelişmiş ülkelerde insanların %50 ila %75'i ve gelişmekte olan ülkelerde ise %90'dan fazlası CMV ile enfektelidir. CMV yakın temas yoluyla bulaşır ve mukozal epitel hücrelerini, vasküler endotel hücrelerini, lökositleri, monositleri ve monositlere farklılaşabilen CD34+ pluripotent kök hücreleri enfekte eder. Çoğu insan asemptomatiktir, bazı insanlar ateş, boğaz ağrısı, şişmiş lenf düğümleri gibi hafif semptomlara sahiptir, bazılarında ise enfeksiyona mononükleoz (heterofil-negatif) veya hepatit eşlik etmektedir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda interstisyel pnömoni, koryoretinit, gastroenterit ve nörolojik bozukluklar görülmektedir. Virus patogenezi, doku hasarı ile birlikte immünolojik hasarın neden olduğu hastalıkları içerir. Konjenital CMV enfeksiyonu dünyadaki bebeklerin %1'inde görülür. Bebeklerin çoğu doğumda normaldir, ancak daha sonra işitme kaybı veya zihinsel gerilik gelişebilir. Doğumda semptomatik hastalığı olan bebeklerde hepatosplenomegali, sarılık, anemi, düşük ağırlık, mikrosefali, döküntü, trombositopeni, koryoretinit görülür [35].

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), bölgelere göre dünyadaki CMV seroprevalans tahmini yapmak için oluşturduğu meta-analize 262 çalışma dahil etmiş ve Doğu Akdeniz bölgesinde doğurgan çağda olan kadınlardaki CMV IgG seropozitifliğini %92, Batı Pasifik bölgesinde %91, Afrika bölgesinde %90, Güneydoğu Asya bölgesinde %89, Amerika bölgesinde %79 ve Avrupa bölgesinde %70 olarak tespit etmiş olup, dünya genelindeki CMV IgG seropozitifliği ise %86 olarak bulunmuştur [102].

Zuhair ve ark.'nın [102] yaptıkları bir kohort çalışmasında Kanada'daki CMV IgG seropozitifliği %18 görülürken Mısır, Tayland, İran, Nepal ve Türkiye'nin de içinde olduğu bir grup ülkede yapılan araştırmalarda %100'lere varan seropozitifliklere rastlanmıştır. Ülke ortalamalarına bakıldığında, en yüksek seropozitiflik ortalamasının ülkemizde (%97), en düşük seropozitiflik ortalamasının ise İrlandada (%44) olduğu belirlenmiştir.

Dinkar ve ark.'nın [103] yaptığı bir taramada en yüksek seropozitiflik 15-25 yaş arasında, Satılmış ve ark. [104] çalışmasında ise en çok CMV IgG seropozitifliği 20-29

yaş aralığında, Varıcı Balcı ve ark. [105] çalışmasında ise en yüksek CMV IgG seropozitifliğinin 20 yaş altında olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Choi ve ark. [106] tarafından yapılan ve 15-49 yaş aralığında 6837 çocuk doğurma yaşında olan kadının katıldığı çalışmada CMV IgG seropozitifliği %95,8 olarak, 5186 çocuk doğurma yaşında olan kadınlarda yapılan çalışmada CMV IgM seropozitifliği %2,4 olarak bulunmuştur. 15-20 yaş arası kadınlarda seropozitifliğin daha büyük yaş gruplarına göre anlamlı derecede (%77,5) daha düşük olduğu saptanmıştır. Çalışmamıza dahil edilen 141 gebe kadında tüm yaş aralıklarında CMV IgG seropozitiflik oranı eşit olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda CMV IgG seropozitifliği %100 iken CMV IgM seropozitifliği %1,41 oranında şüpheli pozitif olarak bulunmuş ve yapılan CMV IgG avidite testleri sonucunda ise düşük avidite saptanmıştır. Çalışmamızın verileri de yapılan meta-analiz verileriyle uyum göstermektedir.

Türkiye’de yapılmış olan benzer çalışmalar incelendiğinde, Bursal ve ark.’nın [107] yaptığı ve 15-49 yaş aralığında toplam 4339 doğurgan çağıdaki kadının dahil edildiği çalışmada CMV IgM seropozitifliği %2,6 iken CMV IgG seropozitifliği %98, Çubuk ve ark. [108] tarafından 2249 gebe kadında yapılan çalışmada CMV IgM seropozitifliği %0,7 , CMV IgG seropozitifliği %99, Gülseren ve ark.’nın [109] yaptığı araştırmada IgM bakılan 3793 gebede ise %0,2 CMV IgM seropozitifliği, CMV IgG bakılan 148 gebede %100 CMV IgG seropozitifliği, Obut ve ark.’nın [110] 18-45 yaş arası 2797 gebe kadında yaptıkları çalışmada CMV IgM seropozitifliği %0,7 ve CMV IgG seropozitifliği %99,2, Demir ve ark.’nın [111] 34.368 kadında yaptıkları araştırmada CMV IgG seropozitifliği %94 ve CMV IgM seropozitifliği ise %3,2 olarak bulunmuştur. Altunal ve ark.’nın [112] yapmış olduğu araştırmaya katılan 963 gebe Türk vatandaşında %0,02 CMV IgM seropozitifliği ve %99,5 CMV IgG seropozitifliği, 103 gebe Suriye göçmeninde de %0 CMV IgM seropozitifliği, %100 CMV IgG seropozitifliği, Şirin ve ark.’nın [113] yaptığı araştırmada 908 gebede CMV IgM seropozitifliği %1,5, CMV IgM seropozitifliği (ara değer) %1,02 ve CMV IgG seropozitifliği ise %98,9 olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada 146 gebe kadına ait serum örneklerinde CMV IgG avidite testi çalışılmış ve CMV IgM pozitif olan 9 olgunun hiçbirinde düşük avidite görülmemiş, 1 olguda ara değer, 8 olguda ise yüksek avidite saptanmıştır. Şahiner ve ark.’nın [114] yaptığı çalışmaya toplam 103 gebe kadın

katılmış ve CMV IgM seropozitifliği %0,97, CMV IgM ara değer seropozitifliği %0,97, CMV IgG seropozitifliği %98,1 ve CMV IgG avidite testine bakıldığında tamamında CMV IgG yüksek avidite bulunmuştur. Parlak ve ark.'nın [115] yaptığı ve toplamda 9326 gebe kadının dahil edildiği çalışmada CMV IgM seropozitifliği %2,6, CMV IgG seropozitifliğine bakılan 157 gebe kadında %100 CMV IgG seropozitifliği ve CMV IgG avidite testine bakılan 150 gebe kadında ise %100 CMV IgG yüksek avidite görülmüştür. Bakacak ve ark.'nın [116] yaptıkları çalışmada 16-49 yaş arasındaki 8158 gebe kadında yapılan tarama sonucu CMV IgG seropozitifliği %99,3, CMV IgM seropozitifliği ise %3,2 olarak, İnci ve ark.'nın [117] 1043 gebe kadını dahil ederek yaptığı çalışmada CMV IgG seropozitifliği %98,6, CMV IgM seropozitifliği ise %1,6 olarak saptanmıştır.

Tablo 5-1: Türkiye’de yakın dönemde gebe kadınlarda yapılan bazı çalışmalarda CMV seroprevalans ve IgG Avidite verileri

Çalışmalar	CMV IgM pozitifliği (%)	CMV IgG pozitifliği (%)	CMV IgG avidite sonuçları
Bursal ve ark. 2021, Aydın	2,6	98	—
Çubuk ve ark. 2020, Sivas	0,7	99	—
Gülseren ve ark. 2019, Konya	0,2	100	—
Obut ve ark. 2019, Diyarbakır	0,7	99,2	—
Demir ve ark. 2019, İstanbul	3,2	94	—
Altunal ve ark. 2018, İstanbul	0,2 (Türk vatandaşı)	99,5 (Türk vatandaşı)	—
	0 (Suriye göçmeni)	100 (Suriye göçmeni)	—

Şirin ve ark. 2017, İzmir	1,5 1,02 (ara değer)	98,9	IgM pozitif 9 olguda: Düşük Avidite:0 Ara değer: 1 Yüksek avidite: 8 (%88.9)
Şahiner ve ark. 2015, Ankara	0,97 0,97 (ara değer)	98,1	Tamamında yüksek avidite
Parlak ve ark. 2015, Van	2,6	100	Tamamında yüksek avidite
Bakacak ve ark. 2014, Kahramanmaraş	3,2	99,3	—
İnci ve ark. 2014, Artvin	1,6	98,6	—
Mevcut çalışma 2022, İstanbul	1,41 (şüpheli pozitif)	100	Düşük avidite

Türkiye’de yakın dönemde yapılmış olan CMV seroprevalans çalışmalarına bakıldığında CMV IgG seropozitifliğinin %94 ile %100 arasında değiştiği görülmüştür [107-117]. Seropozitifliğin bu kadar değişiklik göstermesinde yaşam koşulları, ekonomik ve demografik özellikler, hijyenik şartlar, kültürel ve davranışsal faktörlerin etkili olabileceği bildirilmiştir [110]. Çalışmamızda CMV IgG seropozitifliği %100, CMV IgM seropozitifliği %1,41 olup literatür ile uyum göstermektedir. Bu veriler ışığında Türkiye’de ortalama CMV IgG bağışıklığının oldukça yüksek olduğu sonucuna varılabilir.

Gebelikte CMV taramasının gerekli olup olmadığına dair farklı görüşler mevcut olmakla birlikte, özellikle pediatri kliniklerinde veya çocuk bakımı ile ilgilenen doğurma çağındaki kadınların gebe kalmadan önce CMV için taramalarının yapılması, bağışık değillerse bebeklerle temas sonrası ellerini yıkayarak riski azaltmaları ve gebeliğin ilk yarısına kadar testleri aylık olarak tekrarlamaları gerektiği, ayrıca gebelik

sırasında CMV enfeksiyon riskini azaltacak tedbirler ve konjenital enfeksiyonlar hakkında bilgilendirilmeleri gerektiği vurgulanmıştır [118].

Pek çok ülkede gebe kadınlarda, CMV açısından rutin tarama önerilmemektedir. Bunun nedenleri arasında CMV IgG seropozitiflik oranının çok yüksek olması, ticari IgM testlerinde yalancı pozitifliğin yüksek olması ve seropozitif bir gebede reaktivasyon olasılığı sayılabilir. Collinet ve ark. [119] tarafından yayınlanan bir çalışmada CMV enfeksiyonuna karşı primer koruma için gebeliğin başlangıcında rutin CMV taraması öneriliyorken, Hughes ve ark.'nın [120] yayınladığı çalışmada gebe kadınların primer CMV enfeksiyonu için rutin taranması önerilmemiş, bununla birlikte tanımlanmış hastalık süreci ve hastalığın seyrini değiştiren erken müdahale şansının olmayışının hem fetüs hem de gebe için gereksiz müdahalelere yol açabileceği belirtilmiştir. Ancak primer CMV enfeksiyon şüpheli kişilerde CMV IgM, CMV IgG ve CMV IgG avidite testlerinin yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Günümüzde Avustralya, Avrupa, İsrail ve Amerika Birleşik Devletleri'nin bazı bölgelerinde ulusal olarak onaylanmış tarama programları sunulmaktadır. Bunun yanında maternal veya neonatal tarama sunan, enfeksiyonu önlemek ya da maternal veya fetal CMV enfeksiyonunun tedavisi için etkili ve güvenli tedaviler sunan program bulunmamaktadır. Cevapsız kalan bu sorular için iyi tasarlanmış klinik araştırmalara gerek olduğu belirtilmiştir [121].

Chen ve ark. [122] 21. gebelik haftasında bir fetüsteki fetal asitte CMV DNA saptamışlardır. Fetal asit, özellikle şiddetli oligohidramnios veya anhidramnios mevcut olduğunda, CMV enfeksiyonunun prenatal tanısı için alternatif bir kaynak olabilmektedir. Bu çalışma, amniyotik sıvıda (amniyositler ve amniyotik sıvı süpernatanı) CMV DNA seviyelerinin asitlerle (asit hücreleri ve asitli süpernatant) karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu durum, amniyotik sıvının fetal CMV enfeksiyonunun prenatal tanısında asitten daha yararlı olduğunu desteklemektedir.

Liesnard ve ark. [123] 21. gebelik haftasından sonra amniyotik sıvılarda yaptıkları CMV DNA çalışmalarında prenatal tanı için %80 duyarlılık, %100 özgüllük ve maternal enfeksiyon tanısı ile amniyosentez arasında 7 haftalık bir aralık bildirmiştir.

Donner ve ark. [124] 21. gebelik haftasından önce amniyotik sıvı örneklerinde CMV DNA testinin duyarlılığının %45,4 olduğunu bildirmişlerdir. Maternal CMV

enfeksiyonu tanısı konulduktan sonra alınan amniyotik sıvıdaki viral kantitasyonun düşük olmasının, 21. gebelik haftasından önce amniyotik sıvıda CMV DNA testinin duyarlılığının düşük olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir [124]. Renal tübüler epitel, CMV replikasyonu açısından önemli bir bölgedir. Enfekte fetüste idrarla CMV atılımı olurken diğer taraftan CMV DNA amniyotik sıvıda birikir. Maternal serokonversiyon veya reaktivasyondan CMV'nin fetal idrarla atılımı yaklaşık 6-8 hafta sürer [124, 125]. Bu nedenle, amniyotik sıvıda CMV DNA düzeyi, amniyosentez sırasındaki gebelik yaşı ile ilişkili bulunmuştur [126]. Bu çalışma sonuçlarına göre, amniyositlerdeki CMV DNA düzeylerinin amniyotik sıvı süpernatantından daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ventrikülomegali, hiperekojenik bağırsak, fetal asit ve IUGR'nin prenatal tanısı, kadın doğum uzmanlarının fetal kromozomal anomalilerden şüphelenmesine neden olabilmektedir.

Chen ve ark.'nın [127] yapmış olduğu çalışmada 30 yaşında ve 20. gebelik haftasında olan bir olguda maternal serum örneğinde çalışılan CMV IgM ve CMV IgG testleri pozitif bulunmuştur. 21. gebelik haftasında, ultrasonda fetal asit, intrauterin büyüme kısıtlaması, hiperekojenik bağırsak, ventrikülomegali görülmüştür. Tekrarlanan amniyosentezde CMV DNA saptanmış ve hamilelik sonlandırılmıştır. Hamileliğin sonlandırılmasından sonra, RT-PCR ile göbek kordonu, amniyon, plasenta, kordon kanı, akciğerler, karaciğer ve beyinde CMV DNA saptanmıştır. Sonuç olarak, ventrikülomegali, hiperekojenik barsak ve intrauterin büyüme kısıtlılığı ile birlikte fetal asitin prenatal tanısına, anöploidiye ek olarak konjenital CMV enfeksiyonu konusuna hekimlerin özellikle dikkat etmeleri vurgulanmıştır. Çalışma, konjenital CMV enfeksiyonu vakalarında CMV DNA düzeylerinin amniyotik sıvıda (amniyositler ve amniyotik sıvı süpernatanı) asitten (asitik hücreler ve asitli süpernatant) daha yüksek olduğunu göstermektedir [127].

Dinsmoor ve ark.'nın [128] yaptıkları çalışmada, 55'i (%13,85) amniyosentez yapılan 397 kişi çalışmaya dahil edilmiştir. 53 fetüs ve yenidoğan için CMV DNA sonuçlarına göre 14 amniyosentez örneğinde (%26,41) pozitiflik saptanmıştır. Amniyosentezde gebelik yaşı, CMV ile enfekte olan ve olmayan kişiler arasında benzer değerlerde bulunmuştur. Fetal veya neonatal enfeksiyon prevalansının %26,41 (14/53) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca amniyosentez sonucu pozitif olan 12 gebenin tamamında yenidoğanlarda doğumda CMV enfeksiyonu %86 duyarlılık ve %100 özgüllük ile, 41

kişiden oluşan amniyosentez sonucu CMV DNA açısından negatif olan grupta 2 yenidoğanda, doğumda CMV enfeksiyonu doğrulanmıştır. Amniyosentez pozitif gebeliklerin, amniyosentez negatif gebeliklere göre daha erken bir gebelik yaşında (37.4'e karşı 39.6 hafta; $P<.001$) ve daha düşük doğum ağırlıklarına (2583 ± 749 'a karşı 3428 ± 608 g, $P=.004$) neden olduğu bulunmuştur. Çalışmada, amniyosentez sonuçlarının konjenital CMV enfeksiyonu için güvenilir bir gösterge olduğu vurgulanmıştır [128]. Çalışmamızda da, amniyosentez yapılan 141 (%100) gebe kadında CMV DNA saptanan 17 (%12,05) klinik örnek bulunmuş ve 26-30 yaş arasındaki pozitifliğin, diğer yaş gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Puccetti ve ark.'nın [129] yapmış olduğu çalışmada 603 amniyotik sıvı örneğinde RT-PCR ile CMV DNA testi sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir. Amniyosentez, 20-21. gebelik haftaları arasında ve maternal enfeksiyondan en az 6 hafta sonra yapılmış, sonuçta 545 yenidoğan ve 59 fetüs için test sonuçları belgelenmiştir. 497 amniyotik sıvı örneğinde <500 kopya/mL tespit edilmiş; 468 vakada konjenital CMV enfeksiyonu saptanmazken, 29 yenidoğan doğumda veya sonraki süreçte asemptomatik olarak virus ile enfekte olmuştur. Viral yükü 500 kopya/mL olan 106 vaka arasında 48 enfekte yenidoğan ve 59 enfekte fetüs bulunmaktadır. Toplam 77 yenidoğan CMV ile enfektedir. Semptomlar (mental retardasyon, sensorinöral sağırılık, trombositopeni, tek veya çoklu organ enfeksiyonu) 20 yenidoğanda bulunmuştur. Semptomatik ve asemptomatik yenidoğanlarda viral yük, semptomatik yenidoğanlarda anlamlı olarak daha yüksektir. 59 enfekte fetüsün tamamında post mortem muayenede CMV çeşitli organlardan (beyin, karaciğer, akciğer, böbrek, tiroid, adrenaller ve plasenta) izole edilmiştir. Enfekte 59 fetüsün ikisinde intrauterin ölüm meydana gelmiştir ve 59 fetüsün 56'sı (%95) 100.000 kopya/mL'den fazla viral yüke sahiptir. Puccetti ve ark., amniyotik sıvıda uygun zamanlarda CMV DNA PCR testi pozitifliğinin, CMV ile enfekte fetüsleri tanımladığını ve yüksek viral yük ile konjenital semptomatik CMV enfeksiyonları arasında ilişki bulunduğunu açıklamışlardır. Amniyotik sıvıdaki düşük viral yükün ise, fetal/neonatal hasarı ekarte edebileceğini belirtmişlerdir.

Literatür verilerine bakıldığında ülkemizde de primer maternal enfeksiyon ile ilişkili olgu sunumları mevcuttur.

Akerca ve ark.'nın [130] yapmış olduğu araştırmada, primer maternal enfeksiyon sonrasında gelişen ve doğumda asemptomatik olan bir olgu sunumu yapılmıştır. Bu olguda, gebeliğinin yedinci haftasında seronegatif olan ve 16. haftada CMV IgM pozitifliği ve düşük aviditeli IgG varlığı saptanan bir annede amniyosentezde CMV DNA pozitifliği gösterilmiştir.

Konjenital anomali saptanan hastalarda, CMV'nin yavaş çoğalması, latent özelliğı, pencere döneminin hassasiyeti dikkate alındığında serolojik testlerin eş zamanlı istenmediğı durumlar ve demografik verilere ulaşmamızdaki zorluklar çalışmanın kısıtlılıkları olarak kabul edilebilir.

Gebelik sürecinde, özellikle ilk trimesterde latent bir virus olan CMV'nin fetüste oluşturabileceğı enfeksiyonları önlemek için, serolojik testlerin mutlaka yapılması gerektiğı görüşündeyiz. Ayrıca fetüste klinik bulgu saptandığında enfeksiyonun akut veya kronik ayrımı için CMV IgG avidite testi ve enfeksiyonun doğrulanması için ise CMV DNA PCR testlerinin yapılması büyük önem taşıdığını vurgulamak isteriz.

Gebelikte geçirilen CMV enfeksiyonunun bebeğı etkileme oranı sadece %1 civarındadır. Bazı durumlarda etkileri uzun dönemde ortaya çıkabilmektedir. Bu durum enfeksiyonun gebeliğın hangi dönemlerinde oluştuğı ile ilişkilidir. Fetusun oluşabilecek CMV enfeksiyonundan etkilenme oranı ilk 3-4 aylık dönemde çok yüksektir. İlerleyen gebelik dönemlerinde oluşan enfeksiyonlarda ise fetusa olan etkisi çok daha az olacaktır. Bu çerçevede hamilelik döneminde CMV enfeksiyonu için yapılması gereken hem gebelik öncesinde, hem de gebelik döneminde gerekli test ve kontrolleri yaptırmaktır. Gebelik döneminde gerekli görüldüğü durumlarda anne ve fetustan alınan klinik örneklerde CMV DNA'nın çalışılması ileride olası oluşabilecek bir konjenital anomalinin belirlenmesine, tedavinin karar verilmesine ve gerekirse aile ve doktorun enfeksiyon nedeni ile oluşabilecek riskleri tartışarak birlikte gebeliğın devam edip etmemesi konusunda karar vermelerine yardımcı olacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Manicklal, S., et al., *The "silent" global burden of congenital cytomegalovirus*. Clin Microbiol Rev, 2013. **26**(1): p. 86-102.
2. Cannon, M.J., D.S. Schmid, and T.B. Hyde, *Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection*. Reviews in medical virology, 2010. **20**(4): p. 202-213.
3. Sahiner, F., et al., *Congenital cytomegalovirus infections and glycoprotein B genotypes in live-born infants: a prevalence study in Turkey*. Infectious Diseases, 2015. **47**(7): p. 465-471.
4. Navti, O.B., M. Al-Belushi, and J.C. Konje, *Cytomegalovirus infection in pregnancy—An update*. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2021. **258**: p. 216-222.
5. Leruez-Ville, M. and Y. Ville, *Fetal cytomegalovirus infection*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017. **38**: p. 97-107.
6. Coleman, J.L. and R.W. Steele, *Preventing congenital Cytomegalovirus infection*. Clinical Pediatrics, 2017. **56**(12): p. 1085-1094.
7. Carlson, A., E.R. Norwitz, and R.J. Stiller, *Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened?* Reviews in Obstetrics and Gynecology, 2010. **3**(4): p. 172.
8. Ho, M., *Cytomegalovirus: biology and infection*. 2013: Springer Science & Business Media.
9. Ribbert, H., *Über protozoenartige Zellen in der Niere eines syphilitischen Neugeborenen und in der Parotis von Kindern*. Zbl Allg Pathol., 1904. **15**: p. 945-948.
10. Jesionek, A. and B. Kiolemenoglou, *Ueber einen Befund von protozoenartigen Gebilden in den Organen eines hereditär-luetischen Foetus*. Munch Med Wochenschr, 1904. **51**(51): p. 1905-1907.
11. Ho, M., *The history of cytomegalovirus and its diseases*. Medical microbiology and immunology, 2008. **197**(2): p. 65-73.
12. VonGlahn, W.C. and A.M. Pappenheimer, *Intranuclear inclusions in visceral disease*. The American journal of pathology, 1925. **1**(5): p. 445.
13. Fetterman, G.H., *A new laboratory aid in the clinical diagnosis of inclusion disease of infancy*. American Journal of Clinical Pathology, 1952. **22**(5): p. 424-425.
14. Smith, M.G., *Propagation in tissue cultures of a cytopathogenic virus from human salivary gland virus (SGV) disease*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1956. **92**(2): p. 424-430.
15. Wallace, P.R., et al., *Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1956. **92**(2): p. 418-424.
16. Weller, T.H., et al., *Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1957. **94**(1): p. 4-12.
17. Weller, T.H., *Cytomegaloviruses: the difficult years*. The Journal of infectious diseases, 1970. **122**(6): p. 532-539.
18. Patrick R. Murray, K.S.R., Michael A. Pfaller, *Human Herpesviruses*, in *Medical Microbiology*. 2016, Elsevier. p. 425-446.

19. Hodinka, R.L., *Human Cytomegalovirus*, in *Manual of Clinical Microbiology*, K.C.J. Carroll, James H.; Pfaller, Michael A, Editor. 2015, ASM Press: Canada. p. 1718-1737.
20. Jane Flint, V.R.R., Glenn F. Rall, Theodora Hatzioannou, Anna Marie Skalka, *Herpesviruses*, in *Principles of Virology*. 2020, ASM Press: Washington. p. 1521-1525.
21. Stefan Riedel, S.M., Timothy Mietzner, Steve Miller, *Cytomegalovirus*, in *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 2019, McGraw-Hill Education. p. 489-493.
22. Murphy, E. and T.E. Shenk, *Human cytomegalovirus genome*. Human cytomegalovirus, 2008: p. 1-19.
23. Schleiss, M.R., *Cytomegalovirus*, in *Maternal Immunization*. 2020, Elsevier. p. 253-288.
24. Mocarski, E.S., *Human Cytomegalovirus (Herpesviridae)*, in *Encyclopedia of Virology*, M.Z. Dennis Bamford, Editor. 2021, Elsevier. p. 441-459.
25. Crough, T. and R. Khanna, *Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside*. Clin Microbiol Rev, 2009. **22**(1): p. 76-98, Table of Contents.
26. Serter, D., *Cytomegalovirus (İnsan Herpes Virusu 5)*, in *Virus, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları*. 1997, Nobel Tıp Kitapevleri. p. 141-145.
27. Altınay Bilgiç, T.Ö., *İnsan Sitomegalovirus*, in *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ş. Ustaçelebi, Editor. 1999, Güneş Kitabevi: Ankara. p. 835-843.
28. Us, T., *Cytomegalovirus Enfeksiyonları*, in *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji*, G.S. Ayşe Willke Topçu, Mehmet Doğanay, Editor. 2017, Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul. p. 1191-1197.
29. Murray, P.R., *Cytomegalovirus*, in *Basic Medical Microbiology*. 2018, Elsevier. p. 107-108.
30. Ryu, W.-S., *DNA Viruses*, in *Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses*. 2017, Elsevier. p. 125-140.
31. Satılmış, A., et al., *CMV seroconversion in pregnant and the incidence of congenital CMV infection*. Turk J Pediatr, 2007. **49**(1): p. 30-36.
32. Aynioglu, A., O. Aynioglu, and E.S. Altunok, *Seroprevalence of Toxoplasma gondii, rubella and Cytomegalovirus among pregnant females in north-western Turkey*. Acta Clinica Belgica, 2015. **70**(5): p. 321-324.
33. Sert, Y., et al., *Antenatal cytomegalovirus infection screening results of 32,188 patients in a tertiary referral center: a retrospective cohort study*. Fetal and pediatric pathology, 2019. **38**(2): p. 112-120.
34. Zeytinoğlu, A., et al., *Investigation of congenital CMV infection with the presence of CMV DNA in saliva samples of new born babies*. Mikrobiyoloji Bulteni, 2019. **53**(1): p. 53-60.
35. Kenneth J. Ryan, N.A., J. Andrew Alspaugh, W. Lawrence Drew, Michael Lagunoff, Paul Pottinger, L. Barth Reller, Megan E. Reller, Charles R. Sterling, Scott Weissman, *Herpesviruses*, in *Sherris & Ryan's Medical Microbiology*, K.J. Ryan, Editor. 2022, McGraw Hill. p. 541-550.
36. Pass, R.F., et al., *Increased rate of cytomegalovirus infection among parents of children attending day-care centers*. New England Journal of Medicine, 1986. **314**(22): p. 1414-1418.
37. Jonathan Cohen, W.G.P., Steven M. Opal, *Fetal Implications of Maternal Infections in Pregnancy*, in *Infectious Diseases*. 2017, Elsevier. p. 505-516.

38. Schleiss, M.R., *Antiviral therapy of congenital cytomegalovirus infection*. Semin Pediatr Infect Dis, 2005. **16**(1): p. 50-9.
39. Feigin, R.D., et al., *Textbook of pediatric infectious diseases*. Vol. 1. 2009: Elsevier Health Sciences.
40. Long, S.S., L.K. Pickering, and C.G. Prober, *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. 2003, LWW.
41. Dworsky, M., et al., *Cytomegalovirus infection of breast milk and transmission in infancy*. Pediatrics, 1983. **72**(3): p. 295-299.
42. Jim, W.-T., et al., *Transmission of cytomegalovirus from mothers to preterm infants by breast milk*. The Pediatric infectious disease journal, 2004. **23**(9): p. 848-851.
43. (ed), M.M.E., *Cytomegalovirus: An Oncomodulator and Therapeutic Target in Glioma Management*, in *Emerging and Reemerging Viral Pathogens: Fundamental and Basic Virology Aspects of Human, Animal and Plant Pathogens*. 2020, Elsevier. p. 253-276.
44. Bueno, V., J.M. Lord, and T.A. Jackson, *The Ageing Immune System and Health*. 2017: Springer.
45. Ludmila Müller , K.H., Graham Pawelec, *The Role of CMV in Immunosenescence*, in *The Ageing Immune System and Health*, J.M.L. Valquiria Bueno, Thomas A. Jackson, Editor. 2017, Springer International Publishing: Switzerland. p. 53-68.
46. Isaacson, M.K., A.L. Feire, and T. Compton, *Epidermal growth factor receptor is not required for human cytomegalovirus entry or signaling*. Journal of virology, 2007. **81**(12): p. 6241-6247.
47. Vanarsdall, A.L., et al., *PDGF receptor- α does not promote HCMV entry into epithelial and endothelial cells but increased quantities stimulate entry by an abnormal pathway*. 2012.
48. McDonagh, S., et al., *Viral and bacterial pathogens at the maternal-fetal interface*. Journal of Infectious Diseases, 2004. **190**(4): p. 826-834.
49. Racicot, K. and G. Mor, *Risks associated with viral infections during pregnancy*. The Journal of clinical investigation, 2017. **127**(5): p. 1591-1599.
50. La Torre, R., et al., *Placental enlargement in women with primary maternal cytomegalovirus infection is associated with fetal and neonatal disease*. Clin Infect Dis, 2006. **43**(8): p. 994-1000.
51. Ljungman, P., et al., *Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant patients for use in clinical trials*. Clinical Infectious Diseases, 2016: p. ciw668.
52. Kotton, C.N., et al., *The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation*. Transplantation, 2018. **102**(6): p. 900-931.
53. Gary W. Procop, D.L.C., Geraldine S. Hall, William M. Janda, Elmer W. Koneman, Paul C. Schreckenberger, Gail L. Woods, *Diagnosis of Infections Caused by Viruses, Chlamydia/Chlamyphila, Rickettsia, and Related Organisms*, in *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 2017, Wolters Kluwer. p. 2266-2267.
54. Malinger, G., D. Lev, and T. Lerman-Sagie, *Imaging of fetal cytomegalovirus infection*. Fetal diagnosis and therapy, 2011. **29**(2): p. 117-126.

55. Dogan, Y., et al., *Intracranial ultrasound abnormalities and fetal cytomegalovirus infection: report of 8 cases and review of the literature*. Fetal diagnosis and therapy, 2011. **30**(2): p. 141-149.
56. Cohena, J.I., *Introduction to Herpesviridae*, in *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, R.D. John E. Bennett, Martin J. Blaser, Editor. 2020, Elsevier. p. 1822-1827.
57. Briohny J Hutchinson, R.P.-D., Susan P Walker, *Universal Cytomegalovirus Screening: Time For Reappraisal?* Fetal and Maternal Medicine Review, 2014. **25**(2): p. 117-133.
58. Pass, R.F., et al., *Congenital cytomegalovirus infection following first trimester maternal infection: symptoms at birth and outcome*. Journal of clinical virology, 2006. **35**(2): p. 216-220.
59. Warren Levinson, P.C.-H., Elizabeth A. Joyce, Jesse Nussbaum, Brian Schwartz, *Cytomegalovirus (CMV)*, in *Review of Medical Microbiology & Immunology A Guide to Clinical Infectious Diseases*. 2018, McGraw-Hill Education. p. 286-288.
60. Benoist, G., et al., *Management of pregnancies with confirmed cytomegalovirus fetal infection*. Fetal diagnosis and therapy, 2013. **33**(4): p. 203-214.
61. Naing, Z.W., et al., *Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy: a review of prevalence, clinical features, diagnosis and prevention*. Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2016. **56**(1): p. 9-18.
62. Jorgensen, J.H. and J.D. Turnidge, *Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods*. Manual of clinical microbiology, 2015: p. 1253-1273.
63. Joanne Willey, K.S., Dorothy Wood, *Cytomegalovirus Inclusion Disease*, in *Prescott's Microbiology*. 2020, McGraw-Hill Education. p. 842.
64. Connie R. Mahon, D.C.L., *Clinical Virology*, in *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 2019, Elsevier. p. 692-693.
65. *Sitomegalovirüs Tanı, Tedavi Uzlaşı Raporu*, in *Türkiye Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Derneği*. 2020.
66. Apurba S Sastry, S.B., *Congenital Infections*, in *Essentials of Medical Microbiology*. 2021, Jaypee Brothers Medical Publishers. p. 795-797.
67. Özsürekli, Y., E.K. Öncel, and M. Ceyhan, *Sitomegalovirusun neden olduğu enfeksiyonlarda tanısal yaklaşımlar ve sorunlar*. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 2016. **59**: p. 182-187.
68. Christopher J. Burrell, C.R.H., Frederick A. Murphy, *Pathogenesis of Virus Infections*, in *Fenner and White's Medical Virology*. 2017, Academic Press p. 250-255.
69. Jahan, M., *Laboratory diagnosis of CMV infection: a review*. Bangladesh Journal of Medical Microbiology, 2010. **4**(2): p. 39-44.
70. A Ross, S., et al., *Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection*. Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders), 2011. **11**(5): p. 466-474.
71. Prince, H.E. and M. Lape-Nixon, *Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy*. Clin Vaccine Immunol, 2014. **21**(10): p. 1377-84.
72. Curdt, I., et al., *Development of fully automated determination of marker-specific immunoglobulin G (IgG) avidity based on the avidity competition assay format: application for Abbott Architect cytomegalovirus and Toxo IgG Avidity assays*. Journal of clinical microbiology, 2009. **47**(3): p. 603-613.

73. Prince, H.E. and A.L. Leber, *Validation of an in-house assay for cytomegalovirus immunoglobulin G (CMV IgG) avidity and relationship of avidity to CMV IgM levels*. Clinical and Vaccine Immunology, 2002. **9**(4): p. 824-827.
74. Semra Öz, M.A., *Varicella Zoster Virüsü, Sitomegalovirüs, Epstein-Barr Virüs*, in *Temel, Klinik ve Tanısal TIBBİ VİROLOJİ*, M. Altındış, Editor. 2018, Nobel Akademik Yayıncılık. p. 99-103.
75. John E. Bennett, R.D., Martin J. Blaser, *Antivirals Against Herpesviruses*, in *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2020, Elsevier. p. 577-595.
76. *İnsan betaherpes virüsü 5*. [cited 2022 16.06.2022].
77. SB, B., *Cytomegalovirus*, in *Congenital and Perinatal Infections*, C. Hutto, Editor. 2006, Humana Press Inc: Totowa, NJ, USA. p. 73-86.
78. Permar, S.R., M.R. Schleiss, and S.A. Plotkin, *Advancing our understanding of protective maternal immunity as a guide for development of vaccines to reduce congenital cytomegalovirus infections*. Journal of virology, 2018. **92**(7): p. e00030-18.
79. Marsico, C. and D.W. Kimberlin, *Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment*. Italian journal of pediatrics, 2017. **43**(1): p. 1-8.
80. Schleiss, M.R., *Congenital Cytomegalovirus Infection: Improved Understanding of Maternal Immune Responses That Reduce the Risk of Transplacental Transmission*. Clinical Infectious Diseases, 2017. **65**(10): p. 1666-1669.
81. Dasari, V., C. Smith, and R. Khanna, *Recent advances in designing an effective vaccine to prevent cytomegalovirus-associated clinical diseases*. Expert review of vaccines, 2013. **12**(6): p. 661-676.
82. Elek, S. and H. Stern, *Development of a vaccine against mental retardation caused by cytomegalovirus infection in utero*. The Lancet, 1974. **303**(7845): p. 1-5.
83. Murphy, E., et al., *Coding potential of laboratory and clinical strains of human cytomegalovirus*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003. **100**(25): p. 14976-14981.
84. Jacobson, M.A., et al., *A CMV DNA vaccine primes for memory immune responses to live-attenuated CMV (Towne strain)*. Vaccine, 2009. **27**(10): p. 1540-1548.
85. Cha, T.-a., et al., *Human cytomegalovirus clinical isolates carry at least 19 genes not found in laboratory strains*. Journal of virology, 1996. **70**(1): p. 78-83.
86. Bradley, A.J., et al., *High-throughput sequence analysis of variants of human cytomegalovirus strains Towne and AD169*. The Journal of general virology, 2009. **90**(Pt 10): p. 2375.
87. Bialas, K.M., G.K. Swamy, and S.R. Permar, *Perinatal cytomegalovirus and varicella zoster virus infections: epidemiology, prevention, and treatment*. Clinics in perinatology, 2015. **42**(1): p. 61-75.
88. Pass, R.F., et al., *Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection*. New England Journal of Medicine, 2009. **360**(12): p. 1191-1199.
89. Anderholm, K., C.J. Bierle, and M.R. Schleiss, *Cytomegalovirus vaccines: current status and future prospects*. Drugs, 2016. **76**(17): p. 1625-1645.
90. Kirchmeier, M., et al., *Enveloped virus-like particle expression of human cytomegalovirus glycoprotein B antigen induces antibodies with potent and*

- broad neutralizing activity*. Clinical and Vaccine Immunology, 2014. **21**(2): p. 174-180.
91. Berencsi, K., et al., *A canarypox vector-expressing cytomegalovirus (CMV) phosphoprotein 65 induces long-lasting cytotoxic T cell responses in human CMV-seronegative subjects*. The Journal of infectious diseases, 2001. **183**(8): p. 1171-1179.
 92. Bernstein, D.I., et al., *Effect of previous or simultaneous immunization with canarypox expressing cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B (gB) on response to subunit gB vaccine plus MF59 in healthy CMV-seronegative adults*. The Journal of infectious diseases, 2002. **185**(5): p. 686-690.
 93. Reap, E.A., et al., *Development and preclinical evaluation of an alphavirus replicon particle vaccine for cytomegalovirus*. Vaccine, 2007. **25**(42): p. 7441-7449.
 94. Reap, E.A., et al., *Cellular and humoral immune responses to alphavirus replicon vaccines expressing cytomegalovirus pp65, IE1, and gB proteins*. Clinical and Vaccine Immunology, 2007. **14**(6): p. 748-755.
 95. Schleiss, M.R., et al., *Preconceptual administration of an alphavirus replicon UL83 (pp65 homolog) vaccine induces humoral and cellular immunity and improves pregnancy outcome in the guinea pig model of congenital cytomegalovirus infection*. The Journal of infectious diseases, 2007. **195**(6): p. 789-798.
 96. Bernstein, D.I., et al., *Randomized, double-blind, Phase 1 trial of an alphavirus replicon vaccine for cytomegalovirus in CMV seronegative adult volunteers*. Vaccine, 2009. **28**(2): p. 484-493.
 97. Bernstein, D.I., *Congenital cytomegalovirus: a “now” problem—no really, now*. Clinical and Vaccine Immunology, 2017. **24**(1): p. e00491-16.
 98. Schleiss, M.R., et al., *Additive protection against congenital cytomegalovirus conferred by combined glycoprotein B/pp65 vaccination using a lymphocytic choriomeningitis virus vector*. Clinical and vaccine immunology, 2017. **24**(1): p. e00300-16.
 99. Kharfan-Dabaja, M.A., et al., *A novel therapeutic cytomegalovirus DNA vaccine in allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial*. The Lancet infectious diseases, 2012. **12**(4): p. 290-299.
 100. Mori, T., et al., *Safety of ASP0113, a cytomegalovirus DNA vaccine, in recipients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation: an open-label phase 2 trial*. International journal of hematology, 2017. **105**(2): p. 206-212.
 101. La Rosa, C., et al., *Clinical evaluation of safety and immunogenicity of PADRE-cytomegalovirus (CMV) and tetanus-CMV fusion peptide vaccines with or without PF03512676 adjuvant*. Journal of Infectious Diseases, 2012. **205**(8): p. 1294-1304.
 102. Zuhair, M., et al., *Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis*. Reviews in medical virology, 2019. **29**(3): p. e2034.
 103. Dinkar, A. and J. Singh, *Seroprevalence of Toxoplasma, Rubella, CMV and HSV infection at a teaching hospital: A 7 year study from North India*. Journal of Family Medicine and Primary Care, 2020. **9**(5): p. 2253.

104. Kiriş Satılmış, Ö., et al., *Sorgun Devlet Hastanesine başvuran gebelerde rubella, sitomegalovirüs ve toksoplazma antikorlarının seroprevalansı*. İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Tıp Dergisi (IKSST), 2014. **6**(2): p. 90-96.
105. FK, V.B., et al., *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran gebelerde rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansı*. Ege Tıp Dergisi, 2014. **53**(4): p. 179-183.
106. Choi, R., et al., *Seroprevalence of CMV IgG and IgM in Korean women of childbearing age*. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2021. **35**(4): p. e23716.
107. Bursal, A., *Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama Ve Araştırma Hastanesi'ne Başvuran Doğurgan Çağdaki Kadınların Rubella Ve CMV Seroprevalansının Retrospektif Olarak Araştırılması*, in *Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı*. 2021, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi: Aydın.
108. Çubuk, F., et al., *Hastanemize Başvuran Gebelerde Toksoplazma, Rubella Virüs ve Sitomegalovirus Enfeksiyonları İçin Serolojik Göstergelerin Değerlendirilmesi*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 2020. **50**(4): p. 211-217.
109. Gülseren, Y.D., F.E. Taşbent, and M. Özdemir, *Gebelerde sitomegalovirüs ile rubella seroprevalansının ve yaşa bağlı dağılımının araştırılması*. Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg, 2019. **49**(3): p. 154-61.
110. Mehmet, O., et al., *Diyarbakır ilindeki gebe kadınlarda toksoplazma, rubella ve sitomegalovirus seroprevalansı*. Dicle Tıp Dergisi, 2019. **46**(2): p. 189-194.
111. Demir, E., et al., *İÜ-C Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'ne Başvuran Hastalarda, 2013-2018 Yılları Arasında Toxoplasma gondii, Rubella ve Sitomegalovirus Seropozitifliği ile Avidite Test Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 2020. **50**(1): p. 35-43.
112. Altunal, L.N., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma Gondii, Rubella, and Cytomegalovirus Among Pregnant Refugees and Turkish Women: A Retrospective Comparative Study*. Southern Clinics of Istanbul Eurasia, 2018. **29**(4).
113. Sirin, M.C., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma gondii, Rubella virus and Cytomegalovirus among pregnant women and the importance of avidity assays*. Saudi medical journal, 2017. **38**(7): p. 727.
114. Şahiner, F., et al., *The role of maternal screening in diagnosing congenital cytomegalovirus infections in highly immune populations*. Irish Journal of Medical Science (1971-), 2015. **184**(2): p. 475-481.
115. Parlak, M., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma, Rubella, and Cytomegalovirus among pregnant women in Van*. Turkish journal of obstetrics and gynecology, 2015. **12**(2): p. 79.
116. Bakacak, M., et al., *Gebelerde Toxoplasma gondii, rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansı*. Dicle Med J, 2014. **41**(2): p. 326-31.
117. Ayşe, İ., C. Yener, and D. Güven, *Bir devlet hastanesinde gebe kadınlarda toksoplazma, rubella ve sitomegalovirüs seroprevalansının araştırılması*. Pamukkale Tıp Dergisi, 2014(2): p. 143-146.
118. Pekintürk, N., *Cytomegalovirus Among Childbearing Aged Women Doğurganlık Yaş Grubundaki Kadınlarda Rubella ve Sitomegalovirüs Seroprevalansı*.
119. Collinet, P., et al., *Routine CMV screening during pregnancy*. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2004. **114**(1): p. 3-11.

120. Hughes, B.L., C. Gyamfi-Bannerman, and S.f.M.-F. Medicine, *Diagnosis and antenatal management of congenital cytomegalovirus infection*. American journal of obstetrics and gynecology, 2016. **214**(6): p. B5-B11.
121. Lazzarotto, T., et al., *Congenital cytomegalovirus infection: a narrative review of the issues in screening and management from a panel of European experts*. Frontiers in pediatrics, 2020. **8**: p. 13.
122. Chen, C.-P., et al., *Prenatal detection of human cytomegalovirus DNA in fetal ascites by the polymerase chain reaction*. Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica, 1998. **77**(4): p. 466-467.
123. Liesnard, C., et al., *Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: prospective study of 237 pregnancies at risk*. Obstetrics & Gynecology, 2000. **95**(6): p. 881-888.
124. Donner, C., et al., *Accuracy of amniotic fluid testing before 21 weeks' gestation in prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection*. Prenatal diagnosis, 1994. **14**(11): p. 1055-1059.
125. Revello, M.G. and G. Gerna, *Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant*. Clinical microbiology reviews, 2002. **15**(4): p. 680-715.
126. Gouarin, S., et al., *Real-time PCR quantification of human cytomegalovirus DNA in amniotic fluid samples from mothers with primary infection*. Journal of clinical microbiology, 2002. **40**(5): p. 1767-1772.
127. Chen, C.-P., et al., *Detection and comparison of cytomegalovirus DNA levels in amniotic fluid and fetal ascites in a second-trimester fetus with massive ascites, hyperechogenic bowel, ventriculomegaly and intrauterine growth restriction*. Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2010. **49**(2): p. 206-210.
128. Dinsmoor, M.J., et al., *Amniocentesis to diagnose congenital cytomegalovirus infection following maternal primary infection*. Am J Obstet Gynecol MFM, 2022. **4**(4): p. 100641.
129. Puccetti, C., et al., *71: Cytomegalovirus DNA load in amniotic fluid and neonatal outcome*. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2009. **201**(6): p. S41.
130. Akercan, F., et al., *Maternal primary CMV infection with fetal transmission*. Ege Tıp Dergisi, 2011. **50**(4): p. 261-263.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PRENATAL ENFEKSİYON ŞÜPHELİ FETÜSLERDE CYTOMEGALOVİRUS ENFEKSİYONLARININ ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

% 16	% 14	% 5	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 6
2	www.mikrobiyolbul.org İnternet Kaynağı	% 2
3	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 2
4	www.ekmud.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
6	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi	% 1
7	tmc.dergisi.org İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1

Submitted to Erciyes Üniversitesi