



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YENİDOĞANLARDA KONJENİTAL
CYTOMEGALOVİRUS (CMV) ENFEKSİYONU
GÖRÜLME SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zübeyde ERES SARITAŞ

Antalya, 2013



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YENİDOĞANLARDA KONJENİTAL CYTOMEGALOVİRUS (CMV) ENFEKSİYONU GÖRÜLME SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Zübeyde ERES SARITAŞ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Dilek ÇOLAK

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2013

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2012.04.0103.011 Proje No ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunmaktayım. Hekimlik mesleğinin bir basamağı olan asistanlık dönemine başladığım günden beri üstün bilgilerinden yararlandığım, çalışmanın, yeni bilgiler edinmenin, yeni bilgilere ışık tutmanın ne kadar önemli olduğunu bana öğreten ayrıca, hayatta dimdik duruşuyla her zorluğun üstesinden gelinebileceğini gösteren, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve tezimin her aşamasında büyük emeği olan, bilgisini, tecrübesini esirgemeyen saygıdeğer tez danışmanı hocam öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Dilek ÇOLAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince birçok konuda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. S.Tümer VURAL'a, Sayın Prof.Dr. Meral GÜLTEKİN'e, Sayın Prof.Dr. M. Dilare ÖĞÜNÇ'e, Sayın Prof.Dr. Sadi KÖKSOY'a, Sayın Doç.Dr. Gözde ÖNGÜT'e, Sayın Doç.Dr. Derya MUTLU'ya, Sayın Doç.Dr. Betil ÖZHAK BAYSAN'a, Sayın Uzm.Dr. İmran SAĞLIK'a, Sayın Uzm.Dr. Rabia CAN SARINOĞLU'na teşekkür ederim.

Tezimin örneklerinin alınmasında bana yardımcı olan tüm Odyoloji çalışanlarına; Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ile Kadın Hastalıkları ve Doğum servisi ekibine ayrıca, tüm çalışmalarım süresince çalışma ortamımda sonsuz desteklerini gördüğüm Merkez Laboratuvarında görev yapan tüm çalışma arkadaşlarım ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşmamda büyük emekleri olan, hayatım boyunca bana verdikleri her türlü destek ve duydukları güven ile her zaman yanımda olan annem ve babama, sabırla beni destekleyen, her zaman yanımda olan başta biricik eşim, abim ve yengem olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	vi
Tablolar Dizini	viii
Şekiller Dizini	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tarihçe	5
2.2. Sınıflandırma	6
2.3. Morfolojik Özellikler	6
2.4. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	7
2.5. Replikasyon	7
2.6. Epidemiyoloji ve Patogenez	8
2.6.1. Konjenital enfeksiyon	10
2.6.2. Perinatal enfeksiyon	11
2.6.3. Postnatal enfeksiyon	12
2.6.4. İmmün yetmezliği olan konaklarda enfeksiyon	13
2.7. Klinik	14
2.7.1. Normal konakta klinik bulgular	14
2.7.2. Solid organ transplantasyon alıcılarında CMV enfeksiyonu	15
2.7.3. Kemik iliği transplant alıcılarında klinik bulgular	15
2.7.4. İnsan immün yetmezlik virusu (HIV) ile enfekte hastalarda klinik bulgular	16
2.7.5. Konjenital CMV enfeksiyonunda klinik bulgular	16
2.7.6. CMV'nin diğer hastalıklarla ilişkisi	17
2.8. Laboratuvar Tanısı	18
2.8.1. Histoloji ve sitoloji	18
2.8.2. Hücre kültürleri	18
2.8.3. Antijenemi testi	20
2.8.4. Serolojik yöntemler	20
2.8.5. Moleküler testler	22
2.9. Tedavi	23

2.10. Korunma	25
2.10.1 Aktif bağışıklama (Aşılar)	25
2.10.2. CMV hiperimmunglobülin ve hiperimmun serum (CMV HIG-H1S)	25
2.10.3. Antiviral profilaksi	25
2.10.4. Preemptif profilaksi	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Etik Kurul Onayı	27
3.2. Hastalar	27
3.3. CMV DNA Tayini	27
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	29
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	37
7. ÖZET	38
8. ABSTRACT	39
9. KAYNAKLAR	40

KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BAL	Bronş Alveoler Lavaj
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
C	Cytosine
CMV	Cytomegalovirus
CT	Sitotrofoblast
DDA	Düşük Doğum Ağırlığı
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleozid trifosfat
dk	Dakika
E	Early (Erken)
EIA	Enzimli İmmün Test
ELBW	Extremely Low Birth Weigth
ELISA	Enzimli İmmün Test
EBV	Epstein Barr Virus
DEAFF	Detection of Early Antigen Flourescent Foci
G	Guanin
gB	Glikoprotein B
gH	Glikoprotein H
GIS	Gastrointestinal Sistem
gL	Glikoprotein L
gM	Glikoprotein M
gN	Glikoprotein N
HE	Hematoksilen-Eosin
HHV-5	Human Herpes Virus 5
HHV-6	Human Herpes Virus 6
HHV-7	Human Herpes Virus 7
HHV-8	Human Herpes Virus 8
HIG-H1S	Hiperimmunglobülin ve Hiperimmun Serum

HIV	Human Immunodeficiency Virus
HSV-1	İnsan Herpes simpleks virus tip 1
HSV-2	İnsan Herpes simpleks virus tip 2
IE	İmmediate early (Çok erken)
IE Mrna	Çok erken mRNA
IFA	İmmünfloresan test
IgG	İmmünglobulin G
İV	İntravenöz
IgM	İmmünglobulin M
KİT	Kemik İliği Transplantasyonu
L	Late (Geç)
LBW	Low Birth Weight
MHC	Major Histocompatibility Complex
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NBW	Normal Birth Weight
NSD	Normal Spontan Doğum
PAP	Papanicolau
PMNL	Polimorfonükleer lökositler
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pp	Fosfoprotein
RIA	Radyoaktif immün test
RF	Romatoid Faktör
Rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki dönme sayısı)
SMD	Spontan Müdahaleli Doğum
SİH	Sitomegalik İnklüzyon Hastalığı
SSS	Santral Sinir Sistemi
ST	Sinsityotrofoblast
VLBW	Very Low Birth Weight
VZV	Varizella-Zoster Virus
UV	Ultraviyole
µl	Mikrolitre

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>		<u>Sayfa</u>
4.1.	Bebeklere ait özellikler ve CMV DNA sonuçları	31
4.2.	Konjenital CMV enfeksiyonu saptanan bebeklere ait özellikler ve idrarda CMV DNA miktarları	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Konak hücrede CMV replikasyonu	8

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Cytomegalovirus (CMV) konjenital enfeksiyonların en sık sebebi olarak kabul edilmekte ve tüm canlı doğumlarda %0,2-2,2 sıklığında konjenital enfeksiyona sebep olmaktadır (1). CMV, Herpesviridae ailesinin üyelerinden bir DNA virusudur; tükürük bezlerine olan tropizmi, hücre kültüründe geç üremesi ve sınırlı tür spesifitesinden dolayı beta herpes alt ailesinde yer almaktadır. Virus; idrar, tükürük, vajinal sekresyonlar, semen ve anne sütü gibi tüm vücut sekresyonlarında bulunur, yakın temas, cinsel ilişki, organ nakli ve transplasental yol ile bulaşır. Primer CMV enfeksiyonu; immünitesi tam konakta genellikle asemptomatik seyreder ve gözden kaçar, ancak transplant alıcıları gibi immünyetmezliği olan hastalarda ve immün sistemi henüz gelişmemiş fetusta çok ciddi hasarlara yol açabilmektedir (2). Bugüne kadar CMV'nin intrauterin bulaşı ve sonrasında fetal, neonatal veya infantil dönemde hastalık ortaya çıkışı ile ilgili faktörler tam olarak tanımlanabilmiş değildir. Ancak CMV'nin tüm dünyada konjenital enfeksiyonların en sık nedeni olduğu ve gerek Amerika Birleşik Devletleri'nde, gerekse diğer gelişmiş ülkelerde çocuklarda nörolojik hastalıkların ve sensörinöral işitme kayıplarının önemli sebeplerinden biri olarak kabul edildiği iyi bilinmektedir (3). İntrauterin enfeksiyon riski primer maternal enfeksiyon sırasında yüksek olmakla birlikte, reaktivasyon veya reenfeksiyon şeklindeki sekonder maternal enfeksiyon sırasında da bulaş söz konusudur (4). Önceki yıllarda; CMV seroimmün olmanın gebelikte fetus için koruma sağlayacağı ve immün gebelerden konjenital CMV enfeksiyonlu bebek doğmayacağı, doğsa bile çoğunlukla asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu olacağının düşünülmesi; maternal CMV seroprevalansının yüksek olduğu gelişmekte olan ülkelerde bu konuya daha az ilgi duyulmasına yol açmıştır. Ancak son yıllarda CMV seroimmün kadınlarda fetusa intrauterin CMV bulaşı olduğu kanıtlanmış ve bu gebelerden doğan bebeklerde semptomatik CMV enfeksiyonu varlığı artan oranlarda gösterilmeye başlanmıştır (5-10). Yapılan çalışmalarda semptomatik konjenital CMV enfeksiyonunun şiddeti ve prognozu, primer ve sekonder maternal CMV enfeksiyonlarında farklı bulunmamış, daha da önemlisi sensörinöral işitme kaybının primer ve sekonder maternal CMV enfeksiyonu sonrası benzer oranlarda görüldüğü gösterilmiştir (7,11).

Konjenital CMV enfeksiyonunun görülme sıklığı ile ilgili gelişmiş ülkelere ait çok sayıda veriye kolayca ulaşılabılırken, gelişmekte olan ülkelerde fazla çalışma olmadığından bu konuda yeterli veriye ulaşmak ne yazık ki mümkün değildir (12,13,14). Konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı maternal CMV seroprevalansı düşük (%40-60) olan çoğu Avrupa ülkesinde %0,3-0,5 arası, maternal seroprevalansı yüksek (>%90) olan gelişmekte olan ülkelerde ise ulaşılabildiği kadarı ile %1,0-2,0 arasında bildirilmektedir (9,15,16,17). Bir meta-analiz çalışmasında konjenital CMV enfeksiyonu görülme sıklığı toplumun epidemiyolojik özellikleri ve özellikle de maternal CMV seroprevalansı ile ilişkili bulunmuş; yüksek seroprevalanslı toplumlarda konjenital CMV enfeksiyonu oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (12). Bir başka deyişle; konjenital CMV enfeksiyonu maternal CMV seroprevalansının yüksek olduğu toplumlarda daha fazla gözükmektedir. Konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı ve prognozu ile ilgili son yıllardaki bu yeni bilgilere bağlı olarak; CMV seroprevalansının düşük veya orta olduğu gelişmiş ülke toplumlarından elde edilecek bilgilerin yüksek seroprevalanslı gelişmekte olan ülkelerde uygulanması doğru bir yaklaşım olmayabilir, konjenital CMV enfeksiyonu ve hastalığının gelişmekte olan ülkelere de gelişmiş ülkelere rapor edilenlere benzer sağlık problemi yaratıp yaratmadığının ayrıca araştırılması gereklidir.

Çocuklarda bilateral sensorinöral işitme kaybına genetik defektlerden sonra ikinci sırada CMV neden olmaktadır (3,18). Konjenital CMV enfeksiyonlu bebek asemptomatik ise doğumdan hemen sonra yapılan işitme testinden geçebilir, ancak işitme kaybı ileri dönemde gelişebilir (19). Bebeğe konjenital CMV enfeksiyonunun varlığının bilinmesi işitme kaybı açısından takip edilip önlem alınmasını sağlayabilir. ABD’de tüm sensorinöral işitme kaybı olan çocukların %15-20’sinden konjenital CMV enfeksiyonu sorumludur (3). Konjenital CMV enfeksiyonu olan çocukların yaklaşık %14’ünde kalıcı sensorinöral işitme kaybı bulunmaktadır ve bunların yaklaşık yarısı doğumda asemptomatik olup, işitme kaybı daha sonra gelişmiştir (3). Dolayısı ile bu çocuklar doğum sonrası yapılan işitme testini geçmişlerdir (3,20). Başka çalışmalarda da CMV enfeksiyonu ile doğan bebeklerin %20’sinde özellikle sensorinöral işitme kaybı şeklinde kalıcı nörolojik sekel geliştiği bildirilmiştir (13,21,22). Konjenital CMV’li bebeklerin yaklaşık %10-15’inde doğumda sarılık, hepatosplenomegali, düşük doğum ağırlığı gibi bir veya daha fazla semptom bulunduğu; ama bunların sıklıkla çok hafif ve CMV’ye spesifik olmaması nedeni ile bu bebeklerde CMV’nin araştırılmadığı da

belirlenmektedir (23). Günümüzde bazı ülkelerde doğumda rutin olarak konjenital CMV enfeksiyonu taraması yapılmasının gerekli olup olmadığı tartışılmaya başlanmıştır (24,25,26). Doğumdan hemen sonra konjenital CMV enfeksiyonu taramasının iki önemli yararı olabilir. Birincisi, işitme kaybının ilerlemesini önlemek için tedavi şansı olur. İkincisi, geç başlangıçlı işitme kaybı ve/veya diğer CMV ilişkili yetmezliklerin gelişebileceği çocukların önceden belirlenmesi ve izlenmesi sağlanır (24,25). Sensorinöral işitme kaybı çocuğun direkt olarak entellektüel kapasitesini etkilediği için, konjenital CMV enfeksiyonunun tedavi edilmesi çocuğun öğrenme kapasitesini artıracak ve hayat kalitesini yükseltecektir. Semptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu bebeklerde gansiklovir tedavisinin işitme kaybını önleyici etkisinin olduğu gösterilmiştir (27). Asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu bebeklere antiviral tedavi verilmesi henüz tartışmalı olmakla birlikte; son yıllarda bu bebeklere antiviral tedavi uygulayan ve olumlu sonuçlar bildiren çalışmalar bulunmaktadır (28,29). Asemptomatik olgularda konuşma terapisi ve kohlear implant uygulamaları ile çocuklarda normal dil ve konuşma gelişimi sağlandığı da bildirilmektedir (19,26,30). Bir çalışmada, kazanılmış işitme azlığı olan çocuklara ilk 12 ay içerisinde kohlear implant uygulanırsa önemli derecede daha iyi konuşma olduğu gösterilmiştir (30).

Konjenital CMV enfeksiyonu tanısı hayatın ilk üç haftası içinde konulmalıdır (24,31,32). Tanı için CMV'nin idrarda ya da kanda gösterilmesi önerilmekte, daha yüksek miktarda virus içerdiği için idrar tercih edilmektedir (26,33,34). Tükrük örneğini de tanıda kullanılabilmekte ama CMV'nin anne sütünde de bulunması nedeni ile süt emen bebeklerde yalancı pozitiflik olabileceği akılda tutulmalıdır (Tiziana Lazzarotto ile kişisel görüşme). Yöntem olarak hücre kültürü ve hem yüksek duyarlılığı hem de kısa sürede sonuç vermesi avantajları ile polimeraz zincir reaksiyonu kullanılabilir (24,31,33). Yenidoğan kanında CMV Ig M tayini; tanıda yeterli bir gösterge değildir, konjenital CMV enfeksiyonu tanısında duyarlılığı düşüktür (35,36).

Ülkemizde CMV seroprevalansı çeşitli toplumlarda araştırılmış olup, bu konuda bölgemize ait veriler Ataman ve ark. tarafından bildirilmiştir (37). Buna göre Antalya bölgesinde CMV seroprevalansı toplumda %93,6, fertil dönemdeki kadınlarda ise %97,4 olarak bulunmuştur. Bölgemizde yapılan bir başka çalışmada ise gebelerde CMV seroprevalansı %98,5 olarak belirtilmiştir; bu çalışma esas olarak primer maternal CMV enfeksiyonu oranını saptamaya ve takibine yönelik olarak yapılmıştır, sekonder maternal CMV enfeksiyonu tüm gebelik boyunca takip edilmediği için konjenital CMV

enfeksiyonu oranını belirlemede yetersiz kalmaktadır (38). Bunun dışında ülkemizde bugüne kadar yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonu görülme sıklığını araştıran bir çalışma ulaşılabildiği kadarı ile yapılmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonu görülme sıklığının araştırılması olarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

CMV, Herpesviridae ailesinin en önemli üyesidir. İlk olarak 1881’de Alman araştırmacı Ribbert tarafından ölü doğan bebeklerin böbrek ve parotis bezi otopsi materyallerinde protozoon benzeri hücreler olarak tanımlanmıştır. Lowenstein da, Ribbert’in laboratuvarında çalışırken 30 infantın 4’ünün parotis bezinde benzer hücreler görmüştür (39). Daha sonra 1921 yılında Goodpasture ve Talbert bu geniş hücrelerin viral bir etkene bağlı olabileceğini öne sürmüşler ve viral etken için “cytomegalia” terimini kullanmışlar, Smith ve Vellios ise bu enfeksiyonun intrauterin olarak gerçekleşebildiğini göstermişlerdir (40). Farber ve Wolbach da, farklı sebeplerden ölmüş 183 çocuğun 26’sının tükürük bezlerinde inklüzyon cisimlerini görmüş, bu enfeksiyonun CMV tarafından gerçekleşebileceğini öngörmüşlerdir (39).

CMV ile ilişkili konjenital hastalığın en şiddetli formu, 1930’da infantların tiroid, pankreas, böbrek, akciğer, karaciğer, tükürük bezi otopsi materyallerinde baykuş gözü şeklinde inklüzyon cisimleri görülerek tanımlanan sitomegalik inklüzyon hastalığıdır (SİH). Ardından letal konjenital CMV enfeksiyonun peteşi, hepatosplenomegali ve intraserebral kalsifikasyonlara yol açtığı görülmüştür ve hastaların hepsinde tipik intranükleer inklüzyon cisimcikleri olduğu saptanmıştır (39). Sensorinöral işitme kayıplı çocuklarla semptomatik konjenital CMV enfeksiyonunun ilişkisi ise ilk defa 1964 yılında Medearis tarafından tanımlanmıştır. Sonraki yıllarda sensorinöral işitme kaybı asemptomatik CMV enfeksiyonlu çocuklarda da tanımlanmaya başlanmıştır (41-44).

Virusun izolasyonu 1956 yılında Smith, Weller, Rowe tarafından ayrı ayrı yapılmıştır (40). CMV ilk olarak tükürük bezlerinden izole edildiği için ‘tükürük bezi virusu’ olarak bilinmektedir (45).

Başlangıçta sadece konjenital enfeksiyonlarla ilişkili olduğu düşünülen CMV’nin ilerleyen yıllarda organ transplantasyonu ve immunsupresif uygulamalarından sonra gelişen ciddi enfeksiyonlara da sebep olduğu görülmüştür. Sağlıklı erişkinlerde ise CMV hastalığı ilk olarak 1965 yılında tanımlanmıştır ve 1966’da kan transfüzyonunu takiben CMV antikor titreleri yükselen 4 olguda ‘CMV mononükleozu’ tanımlaması yapılmıştır. Daha sonraki yıllarda seropozitif donörden seronegatif alıcılara transfüzyonun CMV’nin

bulaş mekanizmalarından biri olduğu onaylanmış ve CMV'nin transplantasyon sırasında da önemli olduğu gösterilmiştir (45).

2.2. Sınıflandırma

İnsan Herpesvirus 5 (HHV-5) olarak tanımlanan CMV; Herpesviridae ailesinin en büyük üyesidir. Herpes viruslar çok farklı tipte hücreleri enfekte etme yeteneğine sahiptirler, bu özellikleri ile herpes virus ailesinde; alfa herpesviruslar, beta herpesviruslar ve gamma herpesviruslar olarak 3 alt aile bulunmaktadır.

İnsan Herpes simpleks virus tip 1 (HSV-1), İnsan Herpes simpleks virus tip 2 (HSV-2), Varizella-zoster virus (VZV) ve maymunlarda görülen Herpes B virus alfa herpesviruslar olup, fibroblast ve epitel hücresinde ürerler. Replikasyon döngüleri kısadır. Hücre kültürlerinde belirgin sitopatik etki oluşturup, duyu ganglionlarında latent enfeksiyon oluştururlar.

Cytomegalovirus (CMV), İnsan Herpes virusu 6 (HHV-6) ve İnsan Herpes virusu 7 (HHV-7) beta herpesviruslardır. Tükürük bezlerine tropizmi olan bu virusla enfekte ettikleri hücreyi büyötmektedirler. Replikasyon döngüleri alfa herpesviruslara göre uzundur, hücre kültürlerinde geç ürerler. Tükürük bezlerinde, lenforetiküler hücrelerde ve böbrekte latent kaldıkları düşünülmektedir.

Epstein Barr Virus (EBV) ve İnsan Herpes Virus 8 (HHV-8) ise gamma herpesviruslardır. Bu viruslar, lenfotropik viruslar olup, B lenfositlerde latent kalırlar (46).

2.3. Morfolojik Özellikler

CMV, 120-200 nm çapında en büyük insan herpes virusudur. 235 kb büyüklüğünde, çift iplikli, lineer DNA genomu içerir. DNA'nın çevresinde 162 kapsomerden oluşan ikozahedral kapsid bulunmaktadır. Kapsid majör ve minör olmak üzere iki ana yapı protein içermektedir. Kapsid dışında, tegument veya matriks olarak adlandırılan bir tabaka ve en dışta hepsini çevreleyen lipid zarf bulunur. Bu zarf 180 nm çapındadır ve son yapılan sekans analizlerine göre en az 8 glikoprotein içermektedir (39). Protein kütlelerinin en fazla oranına sahip UL55 (gB); tip 1 transmembran proteindir, hücreden hücreye geçişte ve füzyonda rol oynar. Diğer önemli proteinler UL75 (gH), UL115 (gL), UL100 (gM) ve UL73 (gN)'dür. gH ve gL virusun konak

hücre reseptörlerine adezyonunda önemlidir. gM ve gN ise replikasyon için gerekli proteinlerdir.

Viral kapsid ile zarf arasında bulunan tegüment kısmında matriks proteinleri bulunur. Tegüment proteinleri, virion proteinlerinin yaklaşık %40'ı kadar olup, birçoğu fosforile olmuş (fosfoprotein= pp) durumdadır. Tegüment proteinlerinin %95'ini ppUL83 (pp65) oluşturur. Alt matriks proteini olarak adlandırılan pp65 proteini CMV tanısında önemlidir. Diğer önemli tegüment proteini ppUL82 (pp71)'dir. Bu protein de üst matriks proteini olarak adlandırılmaktadır ve kuvvetli bir transaktivatördür. Viral genom, diğer herpesviruslardan daha geniştir ve pirimidinden zengin dizi içerir. DNA'nın Guanine+Cytosine (G+C) içeriği %58'dir (47,49). Moleküler virolojik tekniklerle CMV suşları arasındaki varyasyonlar çalışılmış, çoğunun standart laboratuvar suşu olan AD-169 ile önemli oranda homoloji gösterdiği saptanmıştır. Bu suşlar DNA düzeyinde %95 aynı dizilime sahip bulunmuştur. Az bir genotipik farklılık gösteren bu suşların tümüne konak immün yanıtı geliştiği gözlenmiştir (48).

2.4. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler

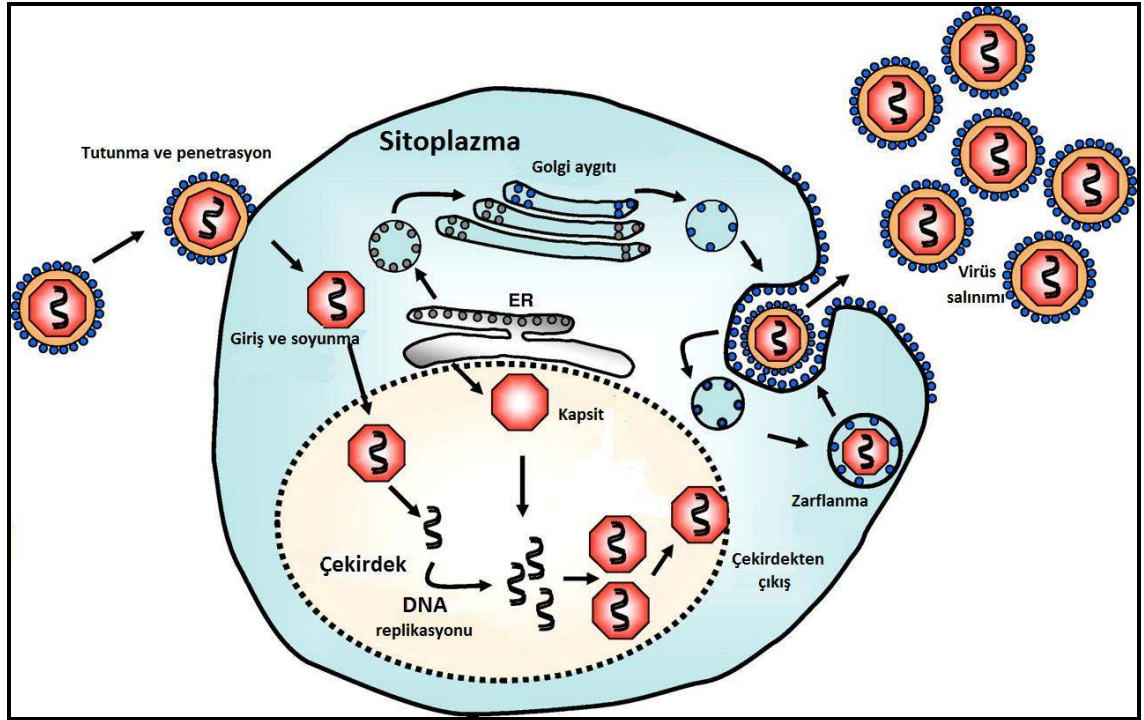
CMV vücut dışında yaşamaya dayanıklı olmayan bir virustur. 56°C'de 30 dakikada, %20'lik eter solüsyonu gibi lipid çözücülerinde 2 saatte, UV ışığında 5 dakikada inaktive olur. Sodyum hipokloridin %10'luk solüsyonuna ve düşük pH (pH<5) derecelerine duyarlıdır. Viral aktivitesi dondurma ve eritme gibi birçok fiziksel işlem ile düşmektedir (39,49).

2.5. Replikasyon

Enfeksiyon oluşmasından yeni viriyonun serbest bırakılmasına kadar geçen toplam zaman yaklaşık olarak 60-80 saattir (46). CMV replikasyonu konak hücre nükleusunda gerçekleşir. Replikasyonda; ilk aşama virusun zarf glikoproteinleri ile hücre yüzeyine tutunması ve penetrasyonudur. Bu tutunmada heparan sülfat hücre-virus ilişkisinde ilk aşamada rol alır. Daha sonra beta-2 mikroglobulin hücre yüzey reseptörleri ve viral glikoproteinler arasında köprü rolü oynar. Tutunmadan sonra viral zarf ile hücre zarı füzyonu olur ve penetrasyon gerçekleşir (49). Kapsid soyulur, CMV genomu hücre çekirdeğine girer ve viral DNA polimeraz ile enfekte hücrenin çekirdeğinde replikasyon başlar (48). Virus, replikasyon sırasında üç sınıf viral protein sentezlemektedir.

1. İmmediate early (çok erken) proteinler (IE): Gen transkripsiyonunda rol oynayan, DNA binding proteinleri.
2. Early (erken) proteinler (E): DNA polimerazın da içinde bulunduğu enzimler ve transkripsiyon faktörleri.
3. Late (geç) proteinler (L): Yapısal proteinler.

Replikasyon enfekte hücrenin çekirdeğinde gerçekleşirken CMV enfeksiyonu için spesifik inklüzyon cisimcikleri oluşur. Bu intranükleer inklüzyon cisimciklerine ‘Owl’s eye (Baykuş gözü)’ denir ve CMV tanısında önemlidir (48). Viral DNA’nın kapsid içine yerleşmesi de hücre çekirdeğinde olur, viral zarf ise nükleokapsidin konak hücre nükleer membranının iç yüzeyinden tomurcuklanması sırasında oluşur.



Şekil 2.1. Konak hücrede CMV replikasyonu (50).

2.6. Epidemiyoloji ve Patogenez

CMV’nin bilinen tek enfeksiyon kaynağı insandır. Tüm dünyada, tüm yaş gruplarında görülmektedir. Her yaşta insanı enfekte eder. Bulaşmanın mevsimsel veya epidemik özelliği yoktur. Bulaşma yollarının yaygınlığı nedeniyle; CMV seropozitivite oranları tüm toplumlarda yaşla birlikte artmaktadır (33,39,51,52). Seroprevalans

alışmalarına bakıldığında; enfeksiyonun erken çocukluk döneminde ve cinsel aktivitenin artmasına paralel olarak reproduktif dönemde pik yaptığı görülmektedir. Kalabalık toplumlarda ve düşük sosyoekonomik koşullarda enfeksiyon oranı yüksek olarak saptanmaktadır. Bu durumda sadece hijyen değil, toplum içi yakın temas da yüksek risk faktörü olarak gündeme gelmektedir (49,53). Sosyoekonomik düzeyi yüksek toplumlarda yetişkinler arasındaki seropozitivite oranı %50-60, gelişmekte olan toplumlarda ise %90-100'dr (48,49,54). Seroprevalans; Avrupa, Avustralya, Kuzey Amerika lkelerinde düşük, Afrika, Güneydoğu Asya lkelerinde oldukça yüksek iken, kimi ülkelerde erişkinlerde yüksek oranda seyrederken, kimi ülkelerde %90-100 oranında çocuklukta kazanılmaktadır. Bu durumda çok eşlilik, ilk cinsel ilişki yaşı ve korunma yöntemlerinin kullanılmaması gibi faktörler de CMV seroprevalansını etkilemektedir (2). Ülkemizde özellikle gebelerde yapılan çalışmalarda CMV seroprevalans oranları %90'ın üzerinde bulunmuştur (38,59,60,61). Bölgemize ait veriler ise Ataman ve ark. tarafından bildirilmiştir (37). Buna göre Antalya bölgesinde CMV seroprevalansı toplumda %93,6, fertil dönemdeki kadınlarda ise %97,4 olarak bulunmuştur. Bölgemizde yapılan bir başka çalışmada ise gebelerde CMV seroprevalansı %98.5 olarak belirtilmiştir (38).

CMV enfeksiyonu vertikal veya horizontal yolla bulaşabilir. Vertikal yolla bulaş enfeksiyon gebelik döneminde geçirildiğinde sözkonusudur ve fetus transplental olarak enfekte olur. Horizontal yolla bulaş ise virusu saçan kişilerle yakın temas sonrası olur. CMV; tükrük, semen, idrar, gözyaşı, dışkı, servikovajinal sekresyonlar, anne sütü, kan gibi pek çok vücut sıvısında bulunduğu için; bulaşma cinsel ilişki, kan transfüzyonu, solid organ veya kemik iliği transplantasyonu, emzirme ve virusu saçan kişilerle yakın temas gibi çok çeşitli yollarla olabilmektedir (47,53). İnkübasyon süresi 4-12 haftadır (55). Primer enfeksiyonun ardından CMV vücutta latent olarak kalır. Reaktivasyon ya da reenfeksiyon şeklinde sekonder enfeksiyonlara yol açabilir. Primer enfeksiyon, CMV ile daha önce enfekte olmamış seronegatif kişilerde meydana gelirken, akut enfeksiyonun iyileşmesinden sonra konakta latent kalan virusun aktivasyon göstermesi (reaktivasyon) ya da seropozitif bir kişinin yeni bir CMV suşu ile enfeksiyonu (reenfeksiyon) ile de sekonder enfeksiyon olur.

2.6.1. Konjenital enfeksiyon

CMV, konjenital enfeksiyonların en sık sebebi olarak kabul edilmektedir (1). Konjenital CMV enfeksiyonu, gebelik esnasında anneden fetusa CMV virusunun transplasental olarak geçişi ile meydana gelir. İntrauterin enfeksiyonlarda önemli risk faktörü annenin primer veya sekonder enfeksiyonudur. Anneden bebeğe geçiş annedeki primer enfeksiyon varlığında %24-75 iken, primer enfeksiyona bağlı olmadan %1-1,2 olarak raporlanmıştır (56). Bununla birlikte, konjenital CMV enfeksiyonu görülme sıklığı toplumun epidemiyolojik özellikleri ve özellikle maternal CMV seroprevalansı ile ilişkili bulunmuş; yüksek seroprevalanslı toplumlarda konjenital CMV enfeksiyonu oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (12). Konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı maternal CMV seroprevalansı düşük (%40-60) olan çoğu Avrupa ülkesinde %0,3-0,5 arası, maternal seroprevalansı yüksek (>%90) olan gelişmekte olan ülkelerde ise %1,0-2,0 arasında saptanmıştır (9,15,16,17).

Primer CMV enfeksiyonu döllenmeden hemen önce ya da döllenme sırasında kazanılırsa fetusa bulaş riskinin çok düşük olduğu bildirilmektedir. Gebeliğin birinci ve ikinci trimesterinde kazanıldığı takdirde fetusa geçme olasılığı benzerdir (sırası ile %45,4 ve %45,6). Üçüncü trimesterde ise %78,6 oranında bulaş söz konusudur. Yani; CMV plasenta bariyerini aşarak fetusa bulaşabilmektedir, plasental enfeksiyon fetusa bulaş olsa da olmasa da saptanmaktadır. Primer maternal CMV enfeksiyonunda; maternal viremi, plasental enfeksiyon ve fetusa hematogen yayılım, konjenital CMV enfeksiyonu gelişiminde en önemli ardışık olaylardır. Viremi esas olarak primer enfeksiyon sırasında bulunmakta, reaktivasyon sırasında immünkompetan konaklarda viremi saptanamamaktadır. İmmünkompetan konakta reenfeksiyon sırasında viremi gelişip gelişmediğine dair de henüz yayınlanmış bir bulgu yoktur. Primer CMV enfeksiyonu sırasında spontan düşük yapan kadınların %15'inde fetusta enfeksiyon saptanmazken plasentanın enfekte olduğu görülmüştür. Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde ise plasental enfeksiyon fetal enfeksiyonla beraberdir. Plasentada, intervillöz aralıkta bulunan ve anne kanı ile temas halinde olan villuslar materno-fetal değişim bölgesidir. Villuslar içte sitotrofoblast (CT) ve dışta CT'lerden kaynaklanan sinsityotrofoblast (ST) denen çift tabaka epitelya hücrelerle kaplanmıştır. Villusların tabanında kan damarları, makrofajlar, mezenkimal hücreler ve konnektif doku bulunur. Gebelik ilerledikçe bazı villuslar uterus duvarına, endometrium, myometrium ve maternal arteriyollere uzanırlar. Gebeliğin 20. haftasında bu bölgede maternal ve fetal hücrelerden oluşan içeren hibrid

bir yapı meydana gelir. Son zamanlarda CMV'nin plasentadan bulaşının; bu hibrid yapıya ulaşan villuslar yolu ile ya da intervillöz aralıkta ST'lere geçişle olduğu düşünülmektedir. İn vitro çalışmalarda CMV'nin lökositlerde prodüktif enfeksiyon oluşturmadığı, ancak lökositlerce taşınarak uterus endotel hücrelerine aktarıldığı ve bu hücrelerde prodüktif enfeksiyon geliştiği, buradan da CT'lere bulaştığı gösterilmiştir. Sonuç olarak; primer maternal enfeksiyon sırasında CMV bulaşı ile ilgili olarak: 1)Maternal lökositlerin, enfeksiyöz virusu CT'lerle temas halinde olan uterus damar endotel hücrelerine aktardıkları ve enfeksiyonun fetal kapiller endotel hücrelerine yayılarak fetusta hematojen yayılım yaptığı, 2)Alternatif olarak; özellikle gebeliğin son dönemlerinde virusla enfekte lökositlerin bozulmuş ST tabakasının arasından direkt olarak fetal endotel hücrelerine virus aktardığı, 3)Bir başka olasılık olarak da; spesifik antikorla kaplı virusların transitoz yolu ile ST tabakasını geçerek CT'lere ulaştığı düşünülmektedir.

İmmün annelerde CMV'nin vertikal geçişi ile ilgili olarak; plasentanın hemiallograft yapısı nedeni ile gelişen lokal immünsüpresyonun makrofajlarda CMV'nin reaktivasyonuna yol açtığı, virusun CT hücrelerine yayılarak onları enfekte ettiği, ardından villuslara ve fetusa ulaştığı düşünülmektedir.

CMV fetal kompartmana ulaştığında hematojen yayılım olmaktadır. CMV fetal kanda saptanabilir, viremi doğumdan sonra aylarca sürebilir. Ancak olguların neden küçük bir grubunda semptom geliştiği tam olarak bilinmemektedir. Çalışmalarda gebeliğin erken döneminde kazanılan ve fetusa geçirilen maternal enfeksiyonların fetusta kötü prognoz açısından yüksek riskli olduğu gösterilmiştir (89).

Konjenital enfeksiyon; işitme kaybı, mikrosefali, mental retardasyon, görme bozuklukları gibi beyin hasarını gösteren bulgular vermektedir. Yapılan çalışmalarda bu hasarın şiddetinin embriyolojik gelişim evrelerine göre değiştiği görülmüştür (57). Sinir kök hücrelerinin CMV enfeksiyonuna oldukça duyarlı olduğu ve nöronal gelişimin olduğu 1. trimestırda enfeksiyonun nöronal gelişimi inhibe ederken, nöronal hücre kaybını artırdığı gözlenmiştir (58).

2.6.2. Perinatal enfeksiyon

Yenidoğanın enfeksiyonu doğum sırasında doğum kanalındaki virusla temas ederek kazanmasıyla oluşur. Doğum sırasında CMV ile enfekte olma oranı %0,7 olarak açıklanmıştır (62). Yaklaşık %10 kadının doğuma yakın dönemde genital kanalında

CMV bulunmaktadır ve virus yenidoğanların yaklaşık %50'sine doğum kanalından geçerken bulaşmaktadır (33,39,48,63). Bu infantlar 4-12 haftalık olduklarında virusu genellikle asemptomatik olarak eksrete etmeye başlarlar. Bu bebeklerde, enfeksiyona bağlı geç nörolojik sekeller gelişmez (39). Yenidoğana anne sütünden de bulaş olabilmektedir. Yenidoğana başka bir CMV bulaş yolu ise kan transfüzyonudur. CMV'yi verilen kandan alan prematüre bebeklerde pnömoni ve hepatitle sonuçlanan klinik tablolar görülebilmektedir (46).

2.6.3. Postnatal enfeksiyon

Okul öncesi kreşe giden çocuklar arasında enfekte tükürük ve idrar; virusun postnatal yayılımında önemlidir. Aktif viral ekskresyon ve bulaş 13-24 aylık çocuklarda en fazla oranda saptanmıştır (65-68) Kreşe giden çocukların %20-70'i bir iki yıl içinde CMV enfeksiyonu geçirmektedir. Antalya'da Ataman ve ark.'nın yaptığı çalışmada CMV bulaşında kritik yaş 7 olarak belirlenmiş; CMV seroprevalansı 7 yaşın altındaki çocuklarda %82,1 iken, 7 yaş üzerinde %96,8 olarak bulunmuş ve bölgemiz için 7 yaş ve üzerinde olmanın CMV enfeksiyon riskini $\times 6,6$ kat artırdığı belirtilmiştir (37). Bu enfekte çocuklar seronegatif gebe anneler veya bakıcılar için büyük risk yaratmaktadır.

Adölesan ve erişkinlerde ise CMV'nin cinsel yolla bulaşı olabilir. CMV, semende ve servikovajinal salgılarda saptanmıştır. Seropozitif erişkinlerin %3-35'i genital salgıları ile virusu yaymaktadırlar (51,63,64,65,69,70). Normal konaklarda virus ile temastan sonra çoğu kez 4-8 haftalık bir kuluçka döneminin ardından enfeksiyöz mononükleoz benzeri bir hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır. Ancak CMV enfeksiyonlarının büyük bir kısmı subkliniklidir. CMV primer enfeksiyon sırasında T hücrelerinin fonksiyonlarını baskılayarak immünsupresyona dolayısıyla fırsatçı patojenlerle süper enfeksiyonlara da neden olabilir. Bu durum; virusun MHC-I ağır zincirinin homologue olan pUL18 proteinini sentezleyip beta-2 mikroglobulin ile bağlanması ile olmaktadır ki bu sebeple CMV enfekte hücreler MHC-I'i eksprese edememektedirler. Buna ek olarak bu pUL18 proteini, beta-2 mikroglobulinini sekestre ederek MHC-I molekülünün olgunlaşmasını engellemekte, böylece enfekte hücreler sitotoksik T lenfositler tarafından tanınmamaktadır. Bu olaylar konakta immün yanıt baskılanması yanında latent enfeksiyonlara da zemin oluşturur (47,49,76). CMV, diğer herpesviruslarda da olduğu gibi yaşam boyu vücutta kalmaktadır (73). Diğer herpes viruslar vücudu belli bölgelerinde latent olarak kalırken, CMV vücudun çok çeşitli

bölgelerinde latent olarak kalabilir. CMV, primer enfeksiyon sonrası, polimorfonükleer lökositler (PMNL), T lenfositler, vasküler endotel hücreleri, böbrek epitel hücreleri ve tükrük bezlerinde latent olarak kalabilmektedir. Virusun latent halden aktif hale geçmesi immün sistem baskılanması ile olmaktadır (39,47,48,49,54,72). Humoral immünite, enfeksiyonun daha önce geçirildiğinin en iyi göstergesi iken, CMV'ye karşı en önemli konak savunma elemanı T lenfositlerdir (72,77). Ayrıca CMV'nin vasküler inflamasyon, ateroskleroz, diabetes mellitus gelişiminde de rol oynadığı öne sürülmüştür (48).

2.6.4. İmmün yetmezliği olan konaklarda enfeksiyon

CMV enfeksiyonu transplantasyon sonrası dönemde en sık sorun olan enfeksiyondur. Kişinin immünsüpresyon derecesi ile ilişkili olarak hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır. Seropozitif donörden organ alan seronegatif kişiler risk altındadır (71). CMV bu hastalarda fırsatçı patojen olarak ortaya çıkmakta direkt ve indirekt etkileri ile önemli morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır (47,48,49,72,73). Virusun direkt etkisinde hepatit, kolit, pnömoni gibi organ tutulumu söz konusudur ve semptomları vardır. İndirekt etkileri ise ateroskleroz, diğer fırsatçı enfeksiyonlar, diabetes mellitus vb. ile ilişkili bulunmuştur. Transplantasyon sonrası CMV enfeksiyonları sıklıkla ilk 3 ay içinde görülür. Solid organ naklinde olduğu gibi, kemik iliği naklinden sonra da CMV fırsatçı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bu hastalara, CMV profilaksisi yapılmazsa mortalite oranları çok yükselir (48,72). Nakil yapılan hastalarda CMV enfeksiyonu primer enfeksiyon, reaktivasyon ya da reenfeksiyon şeklinde görülebilir. Solid organ transplantasyonundan sonra görülen CMV hastalığının spektrumu ve şiddeti; transplante edilen organın tipi, alıcı ve vericinin transplantasyon öncesi serolojik durumları, seçilen immünsupresif tedavi rejimi gibi birçok faktörden etkilenmektedir (47,48,49,52,72). Transplantasyon sonrası CMV hastalığı gelişmesinde en önemli risk faktörü primer CMV enfeksiyonudur. CMV seronegatif alıcılarda gelişen primer CMV enfeksiyonunda immünolojik bellek yokluğuna bağlı olarak viral replikasyon sınırlandırılmaz ve şiddetli hastalık tablosu ortaya çıkar. CMV seropozitif alıcılarda ise gelişen sekonder enfeksiyonlar önceden var olan immünitenin viral replikasyonu sınırlaması nedeniyle asemptomatik veya hafif seyreder. Bununla birlikte, bu hastalarda kullanılan tedavi rejimlerine ve immün yetmezlik derecesine bağlı olarak CMV hastalığı gelişebilir (48,52,72). Seropozitif immünyetmezliği olan olgularda latent virus reaktif olabilir. Reaktivasyonu etkileyen genellikle konağın aldığı tedavidir.

CMV, sitotoksik T lenfosit fonksiyonlarını baskılayarak, T lenfosit alt grubunu etkiler ve CD4/CD8 hücre oranının ters dönmesine sebep olur ve diğer fırsatçı patojenlere duyarlılığı artırır (47,75).

CMV, HIV ile enfekte kişilerde en sık fırsatçı viral enfeksiyon etkenidir. HIV enfeksiyonunda hem latent CMV'nin reaktivasyonu, hem de farklı CMV suşları ile reenfeksiyon görülebilir. Ayrıca bu hastalarda; sadece fırsatçı enfeksiyon yapmakla kalmayıp, HIV enfeksiyonunun doğal seyrini bozup AIDS'e geçişi hızlandırmaktadır. CMV'ye karşı immün yanıtta T lenfositler rol oynadığından, CD4+ hücre sayısının 100 hücre/mm³ altına inmesiyle CMV enfeksiyonu riski artmakta ve bu hastalarda CMV her sistemi tutabilmektedir. En sık gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve merkezi sinir sistemini (MSS) enfekte etmektedir. MSS tutulumunun AIDS hastalarına özgül olduğu bilinmektedir (49). Antiretroviral tedavi sırasında ise CD4+ hücreleri 50 hücre/mm³ altına indiğinde körlükle sonuçlanabilen CMV retiniti en sık görülen klinik tablodur (47,48,49,74).

2.7. Klinik

2.7.1. Normal konakta klinik bulgular

Primer CMV enfeksiyonu ileri yaştaki çocuklarda ve erişkinlerde genellikle asemptomatik seyretmektedir. CMV enfeksiyonunun bir kısmı enfeksiyöz mononükleoz'a benzer bir görünümde olabilir, bu tabloya "*Cytomegalovirus mononukleoz*" ya da "*Heterofil Negatif Mononükleoz Sendromu*" adı verilmektedir. Çünkü; EBV'de genellikle pozitif olan heterofil antikor testi CMV mononükleozunda negatiftir (48,49,52). Normal konaklarda klinik olarak karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk, uzamış yüksek ateş, üşüme titreme, aşırı yorgunluk ve halsizlik görülebilir. Nadiren eksüdatif farenjit ve servikal lenfadenopati görülebilirken, ampisilin alan hastalarda kızamıkçık benzeri döküntüler de olabilmekte, az da olsa interstisyel veya segmental pnömoni, miyokardit, plörit, artrit veya ensefalit de görülebilmektedir. Enfekte kişilerde total lökosit sayısı düşük, normal ve çok yüksek de olabilir. Lenfositoz saptanır. Periferik lökositlerin %50'sinden fazlası lenfositlerden oluşur. Heterofil antikorları yoktur. Kriyoglobulin, Romatoid Faktör (RF), soğuk aglütininler ve antinükleer antikorlar da görülebilir (47,48).

Normal konaklarda CMV'ye bağlı komplikasyonlar çok ender görülür. Çoğu hasta 2-6 haftada sekelsiz olarak iyileşir; virusun salınımı idrar, genital salgılar ve tükürükle bir

süre devam eder. Genellikle antiviral tedavi gerekmez (54).

2.7.2. Solid organ transplantasyon alıcılarında CMV enfeksiyonu

Transplant hastalarında ciddi hastalık tablosu oluşur. Aktif enfeksiyon genellikle, transplantasyon sonrası ilk 3 ay içinde immünsüpresyonun en yoğun olduğu dönemde gözlenir. Solid organ transplantasyonundan sonra görülen CMV hastalığının sıklığı ve şiddeti; transplante edilen organın tipine, alıcı ve vericinin transplantasyon öncesi serolojik durumlarına, seçilen immünsupresif tedavi süresine bağlıdır (39). Bu hastalarda genellikle ateş, halsizlik, letarji, myalji veya artralji, lökopeni, trombositopeni ve hepatit şeklinde semptomlar ortaya çıkar. CMV, gastrointestinal sistemde de herhangi bir yeri etkileyebilir. Hastalarda disfaji, odinofaji, bulantı-kusma, gecikmiş gastrik boşalma, karın ağrısı, GIS kanaması ve diyare görülebilir. Transplantasyondan sonra ilk 3 ay içinde görülen GIS kanamalarının önemli bir bölümünün nedeni CMV enfeksiyonlarıdır. CMV enteriti öldürücü olabilir, bu nedenle erken tanı ve tedavi çok önemlidir. Tüm transplant hastalarında CMV hastalığının sonuçları benzer olmasına rağmen, sıklıkla transplante edilen organ tutulumu olur. Buna bağlı spesifik organ hasarları; akciğer veya kalp-akciğer alıcılarında pnömoni; kalp alıcılarında ateroskleroz, myokardit, retinit, ilerleyici vasküler hasar; karaciğer alıcılarında hepatit; pankreas alıcılarında pankreatit, renal transplant hastalarında nekrozitan ve kresentrik glomerulonefrit ile sonuçlanabilir. Ayrıca bu hastalardaki CMV enfeksiyonu artmış rejeksiyon riski ile de ilişkili bulunmuştur (39). CMV klinik bulguları nonspesifik olabildiği için; diğer fırsatçı enfeksiyonlarla, ilaç toksisitesiyle veya akut rejeksiyon tablosuyla karışabilir. Bu nedenle, CMV'nin tanısı hızlı ve duyarlı laboratuvar testleri ile yapılmalıdır.

2.7.3. Kemik iliği transplant alıcılarında klinik bulgular

Kemik iliği transplantasyonu (KİT) sonrasında en sık 28. gün ile 100. günü kapsayan dönemde ortaya çıkan CMV enfeksiyonu, bu hastalarda önemli morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. CMV'nin KİT alıcılarında; hayatı tehdit eden en önemli komplikasyonu pnömonidir (48). Akciğer grafisinde alt loblarda başlayıp santrale ve apekse doğru ilerleyen simetrik interstisyel tutulum, nadiren de nodüller ve kaviteler görülebilmektedir. Klinik olarak; ateş, kuru öksürük, hipoksiye ilerleyen dispne, taşipne

ve göğüs ağrısı görülür. Hastalarda; karaciğer ve GIS tutulumu da olabilir. Retinit nadir gözlenir.

2.7.4. İnsan immün yetmezlik virusu (HIV) ile enfekte hastalarda klinik bulgular

AIDS'li hastalarda CD 4⁺ T hücreleri 100 hücre/mm³ altına indiğinde CMV hastalığı riski artmaktadır. En sık CMV retinitini görülür. Retinit CD 4⁺ T hücreleri 50 hücre/mm³ altına indiğinde ortaya çıkar. Bu vakalarda, retinal hücrelerde kalınlaşma ve ilerleyici retinal harabiyet sonrasında 4-6 ay içinde körlük gelişir. Göz dibine bakıldığında CMV'ye karakteristik olarak pek çok hemorajik alan içeren pamuk atığı görünümünde beyaz retinal infiltrasyon vardır (48). Bulanık görme, skotom, görmede azalma gibi nonspesifik oftalmolojik semptomlarla tek taraflı olarak başlar. Diğer göze de geçebilir. Retinit, aktif sistemik bir enfeksiyonun göstergesidir ve kültürde virusu üretmek mümkündür. Tanı, fundoskopik incelemede tipik lezyonların görülmesi ile konur (47).

AIDS'li olgularda SSS tutulumu sıktır ve CMV enfeksiyonuna bağlı olarak genellikle poliradikülopati gelişir. Bu hastalarda, alt ekstremitelerde; yukarıdan aşağıya doğru ilerleyen güç kaybı tipiktir. Derin tendon refleksleri alınamaz, barsak ve mesane kontrolü kaybolur. BOS incelemesinde polimorfonükleer lökositler, protein miktarında hafif artış ve şeker miktarında orta düzeyde azalma saptanır. SSS ile ilgili olarak ayrıca meningoensefalit, periferik nöropati ve mononörit gelişebilir. GIS'de özafagustan rektuma kadar herhangi bir bölge tutulabilir (47).

2.7.5. Konjenital CMV enfeksiyonunda klinik bulgular

Primer veya sekonder CMV enfeksiyonu gebelikte geçirildiğinde virus gebelik boyunca anneden fetusa geçebilir, ancak gebeliğin ilk 16 haftasında geçtiğinde hasar meydana gelme olasılığı yüksektir (33,48,63,64). İntrauterin enfeksiyon sonrası yenidoğanların %10'undan azında semptom vardır, %90'a yakını asemptomatiktir (7,36,70). Semptomatik doğan bebeklerin %90'ından fazlasında bir veya daha fazla belirti vardır; bu belirtiler hepatosplenomegali, trombositopeni, peteşiler, mikrosefali, koryoretinit, mental retardasyon, intrauterin gelişme geriliği, prematürite, düşük doğum ağırlığı, trombositopeni, sarılık, anemi, hepatit ve diğer atipik semptomlardır (8,33,64,78). Bu belirtiler doğumda olabileceği gibi doğumdan sonraki ilk günlerde de ortaya çıkabilir. Klinik tablo hafif veya çok ağır olabilir, ölümle sonuçlanabilir. Bu

bulgular sıklıkla çok hafiftir ve CMV'ye spesifik olmadıkları için bu bebeklerde CMV'nin araştırılmadığı belirtilmektedir (23).

Asemptomatik bebeklerde ise doğumda herhangi bir semptom yoktur ancak bu bebekler ileri yaşlarda değişik şekillerle karşımıza gelmektedirler. Asemptomatik CMV enfeksiyonu olan yaklaşık %7-25 infantta SSS'de sekel kalmıştır. Bunlar; mental retardasyon, işitme azlığı, görme bozuklukları ve sensorinöral işitme kaybıdır (48,63,64).

Konjenital CMV enfeksiyonunun en sık rastlanan sekeli %10-15 ile işitme kaybıdır (83). Bu işitme kaybı sıklıkla kalıcı, bilateral ve sensorinöral olarak tanımlanmıştır (3,5,19,21,83). Çocuklarda bilateral sensorinöral işitme kaybına genetik defektlerden sonra ikinci sırada CMV neden olmaktadır (3,18). Heamofilus tip B aşılması rutin uygulamaya girdikten sonra, çocuklarda sensorinöral işitme kaybına en sık CMV enfeksiyonu sebep olmaktadır (21). ABD'de tüm sensörinöral işitme kaybı olan çocukların %15-20'sinden konjenital CMV enfeksiyonu sorumludur (3). Yapılan çalışmalar semptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu çocuklarda, asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu çocuklara oranla daha fazla sağırılık geliştiğini göstermiştir (7,11). Fowler ve ark.'nın 1999'da yaptığı çalışmada 72. aylarına kadar takip edilen konjenital CMV'li çocuklardan, sensorinöral sağırılık gelişen çocukların sadece %59'u ilk 12 ay içinde saptanmışlardır (7). Birminghamda yapılan bir çalışmada da; ciddi veya total (>70 db) işitme kaybının ortaya çıkışının median yaşı semptomatik çocuklarda 33. ay, asemptomatik çocuklarda 44. ay olarak saptanmıştır (83). Bu araştırmalar konjenital CMV enfeksiyonu olan çocukların işitme kaybı açısından risk altında olduğunu ve konjenital CMV'ye bağlı işitme kaybının doğumda mevcut olabildiği gibi yaşamın ilk yıllarından sonra da ortaya çıkabildiğini göstermiş, geç başlangıçlı ve ilerleyen işitme kayıplarının sürekli işitme fonksiyonlarının monitorizasyonu ile takip edilmesi gerektiğini vurgulamıştır. Ve bu durum günümüzde bazı ülkelerde doğumda rutin olarak konjenital CMV enfeksiyonu taraması yapılmasının gerekli olup olmadığı tartışmasını başlatmıştır (24,25,26).

2.7.6. CMV'nin diğer hastalıklarla ilişkisi

CMV'nin rutin klinik tablolarının yanı sıra ateroskleroz, anevrizma, koroner arter hastalığı, diabetes mellitus gibi hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir (84,85).

2.8. Laboratuvar Tanısı

CMV enfeksiyonu düşünölen kişilerde öykü, fizik muayene ve laboratuvar bulguları hep birlikte değerlendirilerek tanı konmalıdır.

CMV enfeksiyonlarının ve hastalıklarının tanısında kullanılan testler moleküler testler ve moleküler olmayan testler olarak iki grupta incelenebilir (33,35).

1. Moleküler olmayan testler

- a) Histoloji ve sitoloji
- b) Hücre kültürleri
- c) Antijenemi testi (pp65)
- d) Seroloji

2. Moleküler testler

- a) Nükleik asit amplifikasyon temelli testler
- b) Nükleik asit hibridizasyon testleri.

2.8.1. Histoloji ve sitoloji

Wright-Giemsa, Hematoksilen-Eosin (HE), Papanicolau (PAP) ile boyanmış biyopsi örnekleri lokalize CMV organ hastalıklarının tanısında yararlı olabilir. Bu örneklerde, bazofilik intranükleer inklüzyonlar içeren tipik sitomegalik hücreler ve eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar görülebilmektedir. Nükleer inklüzyon, sınırında belirgin kromatin içerdği için ve bunun etrafındaki açık alan nükleer membrana kadar uzandığı için ‘baykuş gözü (owl’s eye)’ görünümüne sahiptir. Histopatolojik yöntemlerin, özgüllüğü yüksek (%97) olmasına rağmen, duyarlılıkları (%84) düşüktür (72). Çünkü, CMV morfolojik değişiklikler olmadan da dokuları enfekte edebilir ve tipik sitomegalik hücrelerin görülmemesi CMV enfeksiyonu olmadığı anlamı taşımamaktadır. Histopatolojik yöntemlerin duyarlılığı, histokimyasal boyama ve in situ hibridizasyon ile artırılabilir (39,48).

2.8.2. Hücre kültürleri

CMV tanısında hücre kültürü ‘altın standart’ olarak kabul edilmektedir. CMV; en iyi MRC-5 ve insan embriyosu akciğer hücrelerinde üremektedir (48). Ortalama 2-4 haftada bu hücrelerde büyüme, yuvarlaklaşma, kümelenme, intranükleer inklüzyon cisimcikleri ortaya çıkması gibi tipik sitopatik etkilerin görülmesi ile sonuç verilebilmektedir. Yöntemin duyarlılığı %47-77, özgüllüğü %100’dür. Ancak virusun

ürediği hücrelerin kısıtlı olması ve CMV'nin replikasyonunun oldukça yavaş olmasından dolayı rutin tanıda fazla tercih edilmemektedir. Replikasyon sırasında sentezlenen antijenik açıdan önemli 3 protein vardır. Bu proteinler;

1. İmmEDIATE early (çok erken) proteinler (IE): Nükleusta bulunup, enfeksiyondan 1- 3 saat sonra ortaya çıkarlar,
2. Early (erken) proteinler (E): Nükleusta bulunup, enfeksiyondan 3 saat sonra ortaya çıkmaya başlarlar,
3. Late (geç) proteinler (L): Nükleus ve sitoplazmada bulunup, enfeksiyondan 6-24 saat sonra ortaya çıkmaya başlarlar. Bu proteinlerin saptanması viral replikasyonu gösterir.

CMV tanısı için kullanılan hücre kültürleri iki şekilde yapılmaktadır:

1. Konvansiyonel hücre kültürleri:

- 2-4 haftada tipik sitopatik etkinin görülmesi ile sonuç verilir.
- Duyarlılığı %46-77, özgüllüğü %100'dür.
- Avantajı, virusun antiviral ajanlara karşı direnç özelliklerinin saptanabilmesidir.
- Dezavantajı, sonucun geç çıkmasıdır.

2. Hızlı hücre kültürleri:

- Konvansiyonel hücre kültürlerinde sonuçların gecikmesinden dolayı geliştirilmiştir.
- 24-48 saatte sonuç verebilmektedir.
- Yöntemin temeli, monoklonal antikorlarla IE veya E proteinlerinin saptanmasıdır.
- Bu kültürler; shell vial veya DEAFF (detection of early antigen fluorescent foci) yöntemleri şeklinde uygulanmaktadır.
- Bu yöntemlerle 48 saat sonra immünperoksidaz veya immünfloresan yöntemle monoklonal antikorlar kullanılarak CMV antijenleri araştırılmaktadır.
- Duyarlılığı %44,4-94, özgüllüğü %86-100'dür.
- Duyarlılığı çok yüksek olmasa da, özgüllüğü yüksek olduğu ve erken sonuç verebildiği için halen tercih edilen yöntemlerdendir (79).

2.8.3. Antijenemi testi

CMV antijenemi testi solid organ ve kök hücre transplant alıcılarında CMV enfeksiyonunun tanı-takibinde ve ayrıca antiviral tedavilerinin monitorizasyonunda yardımcıdır. Benzer şekilde HIV + hastalarda da CMV enfeksiyonu tanısına yardımcı olur. Bu yöntem, immunokimyasal yöntemlerle periferik kan lökositlerinde CMV'nin tegument proteini fosfoprotein 65'in (pp65) saptanması esasına dayanmaktadır. pp65 geç proteinlerden biridir ve varlığı virusun replike olduğunu yani aktif CMV enfeksiyonunu göstermektedir. PMNL'lerin pp65 antijenini, CMV ile enfekte endotel hücrelerinden direkt temasla veya plazmadaki virionlardan aldıkları düşünülmektedir.

Antijenemi düzeyi, sayılan 2×10^5 lökositte saptanan pp65 pozitif hücre sayısına göre standardize edilmiştir. Test, kantitatif sonuç vermektedir. Duyarlılığı %92-100, özgüllüğü %88-100 olarak saptanmıştır. Antijenemi testi ile ilgili çalışmalar genellikle immün yetmezlikli hastalarda yapılmıştır. Konjenital CMV enfeksiyonlarının tanısında, eğer enfekte bebek semptomatik ise antijenemi testinin pozitif olduğu bildirilmiştir (79).

Testin dezavantajları; lökopenik hastalarda yalancı negatiflikler saptanabilmesi ve örneklerin alındıktan sonra 4-6 saat içerisinde çalışılmasının gerekmesi, immünfloresan mikroskop ile deneyimli personele ihtiyaç duyulmasıdır.

2.8.4. Serolojik yöntemler

Serolojik yöntemler, CMV spesifik antikorların saptanmasına dayanır. Bu antikorları saptamak için Enzim immün test (ELISA, EIA), Radyoaktif immün test (RIA), İmmünfloresan test (IFA), Kompleman fiksasyon gibi çeşitli serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler ile CMV IgG ve CMV IgM antikorları araştırılmaktadır. Genel olarak, CMV IgM antikorlarının pozitifliği veya iki farklı serum örneğinde CMV IgG antikorlarının titresinde 4 kat artış akut CMV enfeksiyonunun göstergesidir.

Sıklıkla kullanılan, EIA'nın başlıca avantajları hızlı, duyarlı ve özgül olmasıdır. Bu yöntemin dezavantajı, kompleks viral lizatların kullanılması dolayısıyla diğer herpesviruslarla çapraz reaksiyon oluşturabilmesidir.

Daha az kullanılan IFA hızlı, duyarlı, ucuz, ayrıca CMV antikorlarını kalitatif ve kantitatif olarak saptayabilen bir metottur. En büyük dezavantajı sonuçların değerlendirilmesi için immünfloresan mikroskop ve deneyimli personel gerektirmesidir (39).

CMV IgG Antikorlarının Tayini

CMV IgG antikorları virusla daha önce karşılaşmış kişilerde saptanmaktadır. CMV IgG antikorları saptanması aşağıdaki durumlarda kullanılır;

- Doğurganlık çağındaki kadınlarda primer enfeksiyon riski olanların saptanması.
- Transplant alıcılarında primer enfeksiyon riski olanların saptanması.
- Seronegatif kan donörlerinin saptanması
- Epidemiyolojik çalışmalar
- Serokonversiyonun saptanması
- Avidite testleri

CMV IgM Antikorlarının Tayini

CMV IgM pozitifliği normal konakta CMV mononükleozu ve yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonlarının tanısını koymada anlamlıdır. Ancak konjenital CMV enfeksiyonu olan yenidoğanlarda CMV IgM yalnızca %70 oranında pozitifdir (35). İmmün yetmezlikli olgularda ise akut CMV enfeksiyonu tanısını koymada kullanılmamaktadır. Gebelerde önemli problem yaratan primer CMV enfeksiyonunu saptamada serokonversiyon veya CMV IgM antikorların düşük CMV IgG avidite ile beraber saptanması serolojik tanıda altın standarttır. Daha önceki testleri ile seronegatif olduğu bilinen gebenin serumunda serokonversiyonun gösterilmesi primer CMV enfeksiyonunu gösterse de bu tarama biçimi hiçbir ülkede henüz kullanılmamaktadır. Gebelerin taranmasında CMV IgM antikorlarına bakılmaktadır. CMV IgM akut enfeksiyonu göstermede iyi bir gösterge olsa da her zaman primer enfeksiyon ile ilişkili değildir. Gebelerde reaktivasyon veya reenfeksiyon sırasında da CMV IgM pozitif bulunmaktadır. Ayrıca, CMV IgM pozitifliği primer enfeksiyon sonrası aylarca devam edebilir. Bazı gebelerde primer enfeksiyonun akut fazı sonrası 6-9. aylarda da CMV IgM serumda saptanabilmektedir. CMV'nin diğer viral enfeksiyonlarla çapraz reaksiyon vermesi, otoimmün hastalıklar nedeni ile CMV IgM'in yanlış pozitif sonuç vermesi de olasıdır. Bundan dolayı, gebelerde CMV IgM'i saptamak sadece daha ileri tanısal testler için bir başlangıçtır (35).

CMV IgM antikorunu saptamakta yaygın olarak kullanılan konvansiyonel EIA kitleri yetersiz kalmakta, bunun için immün yakalama prensibi ile çalışan ve rekombinant antijenler (pp150, pp52, pp38, pp65 gibi) içeren EIA kitlerinin kullanılması önerilmektedir. Testin duyarlılığı düşüktür. Akut enfeksiyon sırasında her zaman IgM

pozitifliği saptanamamakta, bazen de enfeksiyonun akut döneminden sonra uzun bir süre saptanabilmektedir. Ayrıca reaktivasyonda da pozitifleştiğinden primer enfeksiyon ile reaktivasyon ayırımına olanak sağlamamaktadır (79,80).

CMV IgG Avidite Testi

CMV IgG avidite testi primer CMV enfeksiyonun tanısına yardımcı olmaktadır. Bazı durumlarda virusa özgül IgM ve IgG birlikte pozitif olarak saptanabilmekte ve enfeksiyonun primer veya sekonder ayrımının yapılması gerekmektedir. Virusa özgül IgM antikorları re-enfeksiyonlarda, reaktivasyonlarda, klinik veya subklinik geçirilen akut enfeksiyonların bazılarında sonra serokonversiyonun uzaması durumlarında pozitif olarak saptanabilmektedir. Bu gibi hallerde primer ve sekonder enfeksiyon ayrımı için IgG avidite testleri kullanılmaktadır. Primer enfeksiyonun ilk haftasında CMV IgG aviditesi düşük iken, 4-6 ay sonra yükselmektedir. Yani, yüksek IgG aviditeli bir olguda, enfeksiyonun son 18-20 haftadan önce geçirildiği veya primer olmadığı söylenebilir. CMV IgG avidite testinin duyarlılığı %94, özgüllüğü %100 olarak belirtilmektedir. Primer / sekonder enfeksiyon ayrımının yapılması özellikle gebelik dönemindeki kadınlarda ve immun baskılanmış hastalarda önem kazanmaktadır (81).

2.8.5. Moleküler testler

Nükleik Asit Amplifikasyon Temelli Testler

CMV nükleik asitini saptamada çeşitli testler kullanılabilir. Bunlar içerisinde PCR en fazla kullanılandır. PCR ile BOS, BAL, doku, tükürük, idrar, oküler sıvı ve esas olarak da periferik kanda CMV varlığı araştırılabilir. PCR testlerinde kullanılan nükleik asit ekstraksiyon sistemi, primer dizileri, döngü sayısı ve saptama sistemleri farklı olduğu için testlerin duyarlılık ve özgüllükleri değişebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2012 yılı içerisinde sağladığı uluslararası kantitasyon standartı ile yeni jenerasyon PCR testleri geliştirilmekle birlikte henüz tam bir standardizasyon sağlanamamıştır. Klinik örneklerde, CMV DNA'nın saptanmasında kantitasyon önemlidir. Özellikle, transplant alıcılarında yüksek virus yükü CMV hastalığı riskinin fazla olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, anti CMV ilaç tedavisinde viral yükün azalması ve negatifleşmesi de kantitatif PCR testleri ile takip edilmektedir. Enfeksiyonun geliştiği konağa ve enfeksiyonun lokalize olduğu bölgeye göre farklı klinik örneklerde, PCR ile CMV araştırılabilir. Konjenital CMV enfeksiyonu tanısında

virusun hayatın ilk 3 haftası içerisinde tükürük ve idrardan hücre kültürü veya PCR ile saptanması tanı koydurucudur (24,31,32).

2.9. Tedavi

CMV enfeksiyonlarının tedavisinde, lisanslı gansiklovir ve sidofovir gibi antiviral ajanlar ile foskarnet kullanılmaktadır (48). Bu ilaçlar viral DNA polimerazı inhibe ederek etki göstermektedirler.

Gansiklovir

Gansiklovir; CMV tedavisinde 1988’de onay almıştır. Deoksiguanozin analogu olup, viral enzimler tarafından fosforilasyona uğrayıp gansiklovir trifosfata dönüşerek antiviral aktivite gösteren bir ön ilaçtır. CMV’nin UL97 geninin ürünü olan fosfotransferaz, gansikloviri gansiklovir monofosfata çevirir. Ardından konağın hücresel kinazı ile fosforile olur ve gansiklovir trifosfat formuna döner. Gansiklovirin aktif formu gansiklovir trifosfat, viral replikasyon esnasında DNA polimeraz enziminin substratı ile kompetisyona girerek viral DNA replikasyonunu engeller. Gansiklovirin oral, intravenöz (iv) ve oküler implant formları bulunmaktadır. Oral formun biyoyararlanımı (%6) oldukça düşüktür. Dirençli suşların oluşmasını engellemek için İV olarak kullanılması önerilmektedir. İlacın kullanım süresi ve dozu hastalık tablosuna göre değişmektedir (48,72). Gansiklovir, esas olarak böbrek yolu ile atıldığından böbrek yetmezliğinde dikkatli kullanılmalı, doz azaltılmalıdır. En sık yan etkileri; lökopeni, trombositopeni, anemi, eozinofili, kemik iliği hipoplazisi, ateş, infüzyon bölgesinde reaksiyon, döküntü, karaciğer fonksiyon bozukluğu, hiperkalsemi, bulantı, diyare, böbrek toksisitesidir. Gansiklovire direnç gelişimi iki şekilde olur. En sık görüleni, virusun UL97 geninde mutasyon olması ile ilacın fosforile edilememesi; daha az görüleni ise CMV DNA polimerazın UL54 geninde mutasyon olmasıdır.

Yapılan çalışmalarda, SSS semptomu bulunan konjenital CMV enfeksiyonlu bebeklerin tedavisinde gansiklovir kabul edilmiştir (82,86,88). Randomize kontrollü bir çalışmada konjenital CMV’li bebeklerde gansiklovirin işitme kaybını önlediği gösterilmiştir (88). Semptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu bebeklerin tedavisinde gansiklovir 10 mg/kg, 12 hafta süreli uygulanır ve semptomlar geçene kadar bu tedavi sürdürülür. Semptomlar geçmezse 3 hafta daha tedaviye devam edilir (81).

Asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonlu bebeklerde ise; kemik iliği baskılanması, infertiliteye varabilen gonadal toksisite, ciddi nötropeni, trombositopeni, anemi ve nöbetler gibi yan etkilerinden dolayı koruyucu tedavi tartışmalı bir konudur. Lancker ve ark.'nın 2008 yılında asemptomatik CMV enfeksiyonlu çocuklar üzerinde yaptığı çalışmada 4-11 yıllık takip sonrası tedavi almayan 8 asemptomatik çocukta 2'sinde; birinde 8, diğerinde 10 yaşında olmak üzere ciddi sağırılık görülmesi, tedavi verilen 9 asemptomatik CMV enfeksiyonlu çocukta sağırılık gelişmemesi nedeniyle asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonu için IV gansiklovir tedavisi iyi bir öneri gibi görülmektedir. Tabii ki medikal tedavinin zaman içinde uygulanması için de CMV tarama modelleri zorunludur.

Valgansiklovir, gansiklovirin oral biyoyararlanımı daha yüksek olan valin ester formudur.

Sidofovir

Sitozin nükleotid analogudur. Gansiklovir gibi bir ön ilaçtır. Farkı hücresel enzimlerle fosforile edilmesidir. Etkisini DNA polimerazı inhibe ederek göstermektedir. Sidofovir karşı gansiklovire benzer şekilde direnç gelişebilir ve gansiklovire dirençli CMV suşlarında, sidofovir çapraz direnç görülebilmektedir (80).

Foskarnet

Foskarnet; bir pirofosfat analogudur. Antiviral aktivite için intrasellüler aktivasyonu gerekmez. Viral DNA polimerazın pirofosfat bağlanma bölgesini reversibl olarak bloke eder ve viral DNA'ya deoksिनükleozid trifosfat (dNTP) bağlanmasını engeller. DNA polimeraz aktivitesini inhibe edebilmesi için hücre içinde yüksek konsantrasyonlarda bulunması gereklidir. Bu ilaç UL97 geninde mutasyon nedeniyle gansiklovire direnç geliştiren CMV suşlarına etkilidir. UL54'deki mutasyon sonucu foskarnete de direnç gelişebilir. Ama bu mutasyon gansiklovire direnç gelişmesine neden olan mutasyondan farklı bir bölgededir (80).

Böbrek yetmezliği olanlarda doz ayarlaması yapılmalıdır. Yan etkileri; böbrek toksisitesi, anemi, bulantı, kusma, hipokalsemi, konvülsiyon, hipofosfotemi ve hipomagnezemi olarak sayılabilir.

Formivirsen

Çok erken mRNA'yı (IE mRNA) bloke ederek CMV replikasyonunu inhibe eder. Sadece AIDS'li olgulardaki retinit tedavisi için kullanımı onaylanmıştır.

2.10. Korunma

Bağışıklık sistemi normal konaklarda, çevre hijyeni ve el yıkama CMV enfeksiyonundan korunmada yeterlidir (47).

CMV hastalığı açısından risk grubu olan hastaların profilaksisinde ve “preemptive” tedavisinde ise değişik ajanlar denenmektedir (47).

2.10.1. Aktif bağışıklama (Aşılar)

Aşılanmanın amacı, seroprevalansın düşük ve fertil dönemdeki duyarlı kadınların fazla olduğu toplumlarda primer CMV'ye bağlı konjenital enfeksiyonu önlemek ve immünsuprese hastaları primer CMV enfeksiyonundan korumaktır.

CMV'nin Towne ve Toledo suşları ile hazırlanan canlı virus aşıları bulunmaktadır. Towne suşundan hazırlanan aşı primer enfeksiyonun şiddetini azaltmaktadır. Ancak, aşıya yanıtızlık oranı %24'tür. Daha etkili bir aşı üretebilmek için CMV'un zarf glikoproteini olan gB üzerinde çalışılmaktadır.

2.10.2. CMV hiperimmunglobülin ve hiperimmun serum (CMV HIG-H1S)

Özellikle transplantasyonda risk grubunu oluşturan, vericinin seropozitif, alıcının seronegatif olduğu grupta alıcılarda meydana gelen CMV hastalığının şiddetini azaltmıştır. Hiperimmunglobulin, standart immünglobuline karşı daha etkili bulunmuştur.

Dozaj konusu henüz tartışmalı olup, kullanılan preparata göre değişmektedir. Önerilen kullanım zamanı, transplantasyonlardan sonra 60 gün, haftada 1 defa ve 60 günden sonra 2-3 haftada 1 defadır (47). İmmünglobulin preparatlarının; baş ağrısı, ateş, döküntü, myalji gibi yan etkileri mevcuttur. Bu yan etkiler, genellikle kendini sınırlayıcı niteliktedir (72).

2.10.3. Antiviral profilaksi

Solid organ ve KİT'den sonra alıcıları, CMV hastalığına karşı koruyabilmek amacıyla antiviral profilaksi uygulanmasıdır (48,72). Bugün kullanılan profilaktik yaklaşımlar, farklı transplant programlarına göre değişmektedir (72). KİT sonrası

yüksek dozda verilen valasiklovirin CMV enfeksiyonu ve hastalık insidansını düşürdüğü gözlenmiştir (47). Bu amaçla; i.v. gansiklovir, foskarnet de kullanılabilir. Foskarnet tedavisinin toksisitesinin düşük olduğu fakat %15 hastada profilaksiye rağmen aktif CMV enfeksiyonu geliştiği bildirilmektedir. Solid organ transplantasyonlarında da yüksek doz valasiklovir, gansiklovir ve kombinasyonları kullanılabilir. Bir başka yaklaşım da gansiklovir ve immünglobulin kombine kullanımıdır. Foskarnet ve sidofovir nefrotoksik etkilerinden dolayı tercih edilmemektedirler.

2.10.4. Preemptif profilaksi

Transplant sonrası; CMV hastalığı gelişecek olguların kantitatif sonuç veren testlerle çok iyi monitorize edilerek belirlenmesi ve antiviral tedavinin başlanmasıdır (72,73). Preemptif profilaksinin avantajı, CMV'ye bağlı morbidite ve mortalite riski olmayan hastaların gereksiz antiviral profilaksi almasını engellemesidir (72). Bu profilaksi için, en çok gansiklovir ve valgansiklovir tercih edilmektedir (81).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından, 19 Haziran 2012 tarihinde, 208 sayılı kararla onaylanmıştır.

3.2. Hastalar

Mayıs 2012 - Temmuz 2013 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Odyoloji Polikliniği'ne işitme testi için başvuran, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Kliniği'nde takip edilen ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Kliniği'nde doğumu takiben annelerinin yanında yatmakta olan 0-21 günlük bebekler çalışmaya alındı. Bebeklerden steril koşullarda idrar örneği alınarak, örnekler çalışılincaya dek -80°C'de saklandı. Bebeklere ait doğum öncesi (doğum haftası, doğum şekli, doğum kilosu) ve doğum sonrası (kraniofasiyal anomali varlığı, hiperbilirubinemi, fototerapi ihtiyacı, yoğun bakım ihtiyacı, mekanik ventilasyon ihtiyacı, ailede sağırlık olup olmadığı, annenin gebelik döneminde ateşli hastalık geçirip geçirmediği ve işitme testi sonuçları) özellikler kaydedildi.

Konjenital CMV enfeksiyonu tanımı: 0-21 günlük olup, idrarında CMV DNA saptanan olgular konjenital CMV enfeksiyonu olarak tanımlandı.

3.3. CMV DNA Tayini

Hasta örneklerinde CMV DNA varlığı gerçek zamanlı PCR yöntemi ile araştırıldı. DNA ekstraksiyonu ticari kit (High Pure Viral Nucleic Acid Kit v17.0, Roche Diagnostics, Almanya) ile aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

CMV DNA izolasyonu:

- Örnekler -80°C'den çıkartılarak oda ısısına gelmeleri bekledi.
- 200 µl örnek 1,5 ml'lik ependorf tüplere konuldu.
- Her tüpe; 2,5 ml Binding Buffer + 50 µl polyA carrier RNA ile hazırlanan Working Solution'dan 200 µ eklendi.

- Her tüpe 50 µl Proteinase K eklendi.
- Tüpler 10 dk 72°C’de ısı bloğunda tutuldu.
- Kısa santrifüjleme sonrası 100 µl Binding Buffer eklenip vortekslendi.
- Örnekler kit içerisinde çıkan filtreli tüplere aktarıldı.
- 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Filtre temiz boş tüpe aktarıldı.
- Üzerine 500 µl Inhibitor Removal Buffer eklendi.
- 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Filtre temiz boş tüpe aktarıldı.
- Üzerine 450 µl Wash Buffer eklendi.
- 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.
- Filtre temiz boş tüpe aktarıldı.
- Üzerine tekrar 450 µl Wash Buffer eklendi.
- 8000 rpm’de 1 dk, ardından 13000 rpm’de 10 sn santrifüj edildi.
- Filtre 1.5 ml’lik ependorf tüplere aktarıldı.
- 50 µl Elüsyon Buffer eklenip 8000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi.

Ekstraksiyon 200 µl hasta örneği (idrar) ile başlayıp, 50 µl ekstrakt elde edilerek tamamlandı. Elde edilen ekstrakt gerçek zamanlı PCR testi için -80°C’de saklandı.

Gerçek zamanlı PCR (LightMix Human Cytomegalovirus, TIB MOLBIOL, Almanya) ile Light Cycler 2.0 (Roche Diagnostics, Almanya) cihazında; hedef olarak CMV glikoprotein B geni üzerindeki 226 bp uzunluğundaki gen bölgesi, internal kontrol olarak da 278 bp uzunluğunda dizi araştırıldı. Kitin alt saptama limiti 10 kopya/reaksiyon, kantitasyon aralığı ise 100-1.000.000 kopya/reaksiyon’dur.

-1 reaksiyon için kullanılan amplifikasyon karışımı içeriği:

2.4 µl PCR-grade su

2.6 µl Mg² solüsyonu

4.0 µl reagen karışımı (özellik primer-prob karışımı)

4.0 µl internal kontrol karışımı

2.0 µl Roche master (enzim)

5.0 µl DNA ekstraktı

Toplam 20 µl olarak hazırlanan amplifikasyon karışımı kapiller tüplere konuldu ve 1000 rpm’de 1 dakika santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5417 C, ABD) edildi. Amplifikasyon için Light Cycler 2.0 (Roche Diagnostics, Almanya) cihazına yerleştirildi. Amplifikasyon protokolü 95°C 10 dk (1 siklus); 95°C 5 sn, 62°C 5 sn, 72°C 15 sn (50 siklus); erime eğrisi için 95°C 20 sn, 40°C 20 sn (1 siklus) ve ardından 40°C 30 sn (1 siklus) olarak uygulandı. Amplifikasyon görülen örneklerde spesifikliğin kontrolü ürünlerin erime eğrileri analiz edilerek yapıldı. Pozitif çıkan sonuçlar 50 ile çarpılarak mililitredeki kopya sayısı (kopya/mL) hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler SPSS for Windows 18.0 programına kaydedildi. Sonuçların karşılaştırılması için Pearson ki kare testi, Fisher kesin testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Toplam 886 bebek (435 kız ve 451 erkek) çalışmaya alınmıştır. Kırk bebeğin doğum öncesi ve doğum sonrası özelliklerine ait bilgilerine erişilememiştir, bu nedenle bu bilgiler 846 bebek üzerinden hazırlanmıştır.

Bebeklerin örnek alındığında median yaşı 1 gün (aralık 0-21) olarak bulunmuştur.

Çalışmaya alınan 886 bebeğin sekizinin (%0,9) idrarında CMV DNA pozitif bulunmuştur. Tüm bebeklere ait özellikler ve CMV DNA sonuçları Tablo 4.1’de gösterilmiştir. Konjenital CMV enfeksiyonu saptanan bebeklere ait özellikler ve idrarda CMV DNA miktarları Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Bir bebekte düşük doğum ağırlığı (DDA), bir bebekte prematürite ve DDA, bir bebekte ise prematürite, DDA ve fototerapi gerektiren hiperbilirubinemi saptanmıştır. Bu üç (%37,5) bebeğe solunum desteği verilmesi gerekmiştir, hiçbirinde pnömoni gelişmemiş, antiviral tedavi verilmemiştir. Konjenital CMV enfeksiyonu ile cinsiyet, doğum haftası, doğum şekli, doğum kilosu, kraniofasial anomali varlığı, hiperbilirubinemi, fototerapi ihtiyacı, yoğun bakım ihtiyacı, mekanik ventilasyon ihtiyacı, ailede sağırlık olup olmadığı, annenin gebelik döneminde ateşli hastalık geçirip geçirmediği ve işitme testleri arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır. Asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan yenidoğanlardan birinin annesinde gebelik döneminde ateşli hastalık öyküsü mevcuttur.

CMV DNA pozitif bulunan bebekler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Polikliniği’nde yeniden muayene edilmişlerdir. Bu muayenede ek olarak retinopati açısından göz dibi muayenesi yapılmış ve intrakraniyal kalsifikasyon varlığı araştırılması amacı ile yan kafa grafileri istenmiştir, tümü normal çıkmıştır. Bu bebekler takip programına alınarak, 6 ay sonra ve ardından yılda bir idrarda CMV tayini ve işitme testi yapılması planlanmıştır.

Tablo 4.1. Bebeklere ait özellikler ve CMV DNA sonuçları *.

Özellik		Negatif		Pozitif		Toplam	p değeri
		n	%	n	%		
Cinsiyet	Kız	430	(98,9)	5	(1,1)	435	p>0.05
	Erkek	448	(99,3)	3	(0,7)	451	
Doğum Haftası	İleri derece preterm 24-31 hft	12	(92,3)	1	(7,7)	13	p>0.05
	Orta derece preterm 32-36 hft	91	(98,9)	1	(1,1)	92	
	Sınırdaki preterm 37. hft	53	(100)	0	(0,0)	53	
	Term 38-42 hft	682	(99,1)	6	(0,9)	688	
Doğum Kilosu	İleri derecede düşük (<1000 gr)	2	(100)	0	(0,0)	2	p>0.05
	Çok düşük (1000-1500 gr)	11	(91,7)	1	(8,3)	12	
	Düşük (1500-2500 gr)	99	(98,0)	2	(2,0)	101	
	Normal (>2500 gr)	726	(99,3)	5	(0,7)	731	
Doğum Şekli	NSD	235	(98,7)	3	(1,3)	238	p>0.05
	SMD	3	(100)	0	(0,0)	3	
	Sezaryen	600	(99,2)	5	(0,8)	605	
Kraniofasial Anomali	Kulak önü eti	8	(100)	0	(0,0)	8	p>0.05
	Hidrosefali	1	(100)	0	(0,0)	1	
	Mikrosefali	2	(100)	0	(0,0)	2	
	Yarık damak dudak	1	(100)	0	(0,0)	1	
	Yok	826	(99,0)	8	(1,0)	834	
Ailede Sağırlık	Var	10	(100)	0	(0,0)	10	p>0.05
	Yok	828	(99,0)	8	(1,0)	836	
Gebelik Döneminde Ateşli Hastalık	Var	5	(83,3)	1	(16,7)	6	p>0.05
	Yok	833	(99,2)	7	(0,8)	840	
Doğumda Hiperbilirübinemi	Var	49	(98,0)	1	(2,0)	50	p>0.05
	Yok	789	(99,1)	7	(0,9)	796	
Fototerapi	Var	42	(97,7)	1	(2,3)	43	p>0.05
	Yok	796	(99,1)	7	(0,9)	803	
Yoğun Bakım Yatış	Var	117	(97,5)	3	(2,5)	120	p>0.05
	Yok	721	(99,3)	5	(0,7)	726	
Mekanik Ventilasyon	Var	71	(95,9)	3	(4,1)	74	p>0.05
	Yok	767	(99,4)	5	(0,6)	772	
İlk İşitme Testi Sonuç	İki Kulak Geçti	705	(99,2)	8	(1,1)	711	p>0.05
	Sağ Kulak Geçti Sol Kulak Kaldı	25	%100	0	(0,0)	25	
	Sol Kulak Geçti Sağ Kulak Kaldı	15	%100	0	(0,0)	15	
	İki Kulak Kaldı	93	(97,9)	0	(0,0)	95	

*NSD: Normal spontan doğum, SMD: Spontan müdahaleli doğum (vakum, forseps, vb.)

Tablo 4.2. Konjenital CMV enfeksiyonu saptanan bebeklere ait özellikler ve idrarda CMV DNA miktarları*.

Hasta No	Cins	CMV DNA (Kopya/mL)	Doğum Haftası	Doğum Kilosu (gram)	Doğum Şekli	KF Anomali	Ailede Sağırlık	Geb. Ateşli Hast	Hiper Bil.	Foto terapi	YB	Mekanik Ventil.	İşitme Testi
1	K	2895000	40	2100	S	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Geçti
2	K	635000	40	3000	S	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Geçti
3	K	520000	40	3000	NSD	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Geçti
4	E	469500	39	3580	S	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Geçti
5	K	185000	34	1744	S	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Var	Var	Geçti
6	E	66000	40	4170	NSD	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Geçti
7	K	45950	38	3310	NSD	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Geçti
8	E	985	29	1406	S	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Var	Var	Geçti

* KF:Kraniyofasiyal; Geb:Gebede; Hast:Hastalık; Bil:Bilirübinemi; YB: Yoğun Bakım; Ventil:Ventilasyon; K:Kız; E:Erkek; S:Sezaryen; NSD:Normal spontan doğum

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonu varlığı araştırılmış ve görülme oranı %0,9 olarak saptanmıştır. Bu oran yüksek seroprevalanslı toplumlar için beklenen değerler arasındadır. Seroprevalans oranının %80'den fazla olduğu ülkelerde benzer konjenital CMV enfeksiyonu oranları rapor edilmektedir; Portekiz'de %1,05, İran'da %2,6, Brezilya'da %1,08, Şili'de %1,8, Kore'de %1,2, Meksika'da %0,9, Çin'de %1,8, Hindistan'da %2,1, Afrika'da %0,9-1,4 oranlarına rastlanmaktadır (90-100). Avrupa ülkelerinde CMV seroprevalansı daha düşük olmakla birlikte örneğin; %41 seroprevalansı olan Hollanda'da konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı bizimle benzer %0,9 olarak bildirilmiştir (101). Bu oran İngiltere'de %0,33, İsveç'de %0,5 ölçülmüştür (102,103). Ülkemizde bugüne kadar konjenital CMV oranını bildiren bir çalışma yapılmamıştır. Bölgemizde 2002 ve 2003 yıllarında yapılan bir çalışmada 1027 gebe takip edilmiş 3'ünde (%0,3) primer maternal CMV enfeksiyonu, 12'sinde (%0,8) rekürren maternal CMV enfeksiyonu saptanmıştır (38). Aynı çalışmada; yalnızca CMV enfeksiyonu saptanan gebelerin bebeklerinin kan örneklerinden CMV DNA bakılmış ve pozitiflik saptanmamıştır; ancak primer CMV enfeksiyonu olan 1 gebenin amniyon sıvısında yüksek miktarda CMV DNA saptanmış, bu bebek anne karnında ölmüş ve çalışmanın sonunda konjenital CMV enfeksiyonu oranı %0,1 olarak bildirilmiştir (38). Satılmış ve ark.'nın çalışmasında tüm yenidoğanların incelenmemesi ve bebeklerin yalnızca kan örneklerinde CMV DNA bakılması saptanan düşük oranı açıklayabilir. Gerçekte, ülkemizde konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı daha yüksek (%1-2) olarak beklenmektedir (9,15,16,17). Çalışma grubumuzda idrar örneği alamadığımız için tükürük örneği temin ederek çalıştığımız 5 olgunun tümünde CMV DNA pozitif bulunmuştur. Ancak idrar örneklerine ulaşamayan bu olgular çalışmadan çıkarılmıştır. Bu olgularda çalışmaya katılacak olursa konjenital CMV enfeksiyonu oranımız %1,45 olmaktadır. Çalışmamızda; konjenital CMV enfeksiyonu ile cinsiyet, doğum haftası, doğum şekli, doğum kilosu, kraniofasiyal anomali varlığı, hiperbilirübinemi, fototerapi ihtiyacı, yoğun bakım ihtiyacı, mekanik ventilasyon ihtiyacı, ailede sağırılık olup olmadığı, annenin gebelik döneminde ateşli hastalık geçirip geçirmediği ve işitme testleri arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır.

Ülkelerdeki konjenital CMV enfeksiyonu oranlarını incelerken seçilen örnek ve yöntemlerin sonucu etkileyebileceği akılda tutulmalıdır. Buna en iyi örnek İtalya'dan verilebilir. Gerek konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı gerekse tanısı ile ilgili olarak pek çok çalışmanın yapıldığı İtalya'da Barbi ve ark. konjenital CMV enfeksiyonu görülme oranını 1998'de %0,47, 2006'da fertil dönemdeki kadınlarda %80 CMV seroprevalansı ile %0,18 olarak bildirmektedirler (32,104). İlk sonuç, idrar örneği ve hücre kültürü yöntemi ile elde edilirken; ikinci sonuç kuru topuk kanı ve PCR yöntemi ile elde edilmiştir. Gerçekten de kullanılan örnek ve yöntem sonucu etkilemektedir. Konjenital CMV enfeksiyonu tanısında altın standart olan örnek idrardır. Virus idrarda çok yüksek kopyalarda bulunmakta ayrıca yöntem doğru uygulandığı taktirde yanlış pozitif sonuç beklenmemektedir. Virusların tanısında altın standart hücre kültürü yöntemidir. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğü idrarda CMV PCR yöntemini son yıllarda hücre kültürü gibi standart tanı yöntemleri arasına koymuştur (33). Virus bebek kanında daha düşük kopyalarda bulunmakta, bu nedenle PCR yöntemi ile bile yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir (105,106). Tanıda kullanılan bir diğer örnek tükürüktür. Bebeklerden idrar örneğinin alınmasının zor olması ve virusun tükürükte de bulunduğu bilinmesi araştırmacıları çok kolay elde edilen tükürükten CMV'yi araştırmaya yönlendirmiştir. Gerçekten de, tükürükte PCR ile CMV'nin araştırılması ile ilgili oldukça çok sayıda yayın bulunmaktadır. Ancak, anne sütü ile CMV'nin bulaştığının bilinmesi, CMV seroprevalansının yüksek olduğu gelişmekte olan toplumlarda anne sütü ile beslenme oranının yüksek olması; emzirmenin hemen ardından bebekten tükürük örneği alındığında yalancı pozitif sonuç çıkma olasılığını artırmaktadır. Koyano ve ark. sütünde CMV pozitif olan 2 annenin bebeklerinden emzirmeden hemen önce ve emzirmeden sonraki 30 dk içinde tükürük örneği ayrıca idrar örneği almışlar, emzirme öncesi tükürüklerinde ve idrar örneklerinde CMV DNA saptamazken, emzirmeden sonra alınan tükürük örneklerinde CMV DNA'yı pozitif bulmuşlardır (107). CMV seroprevalansı ve emzirme oranının yüksek olduğu toplumlarda yenidoğanın tükürük örneğinde CMV araştırılması planlandığında bu bilgilerin dikkate alınması gereklidir. Bu çalışmada bu nedenle idrar örneği seçilmiştir. Ancak, bebekten idrar örneğinin alınması çok zor ve zahmetlidir. Tamamen bebeğe bağımlılık gerektirmektedir. Bu konuda Koyano ve ark.'nın önerdiği gibi idrar emdirilmiş kurutma kağıtlarından CMV DNA çalışılması alternatif bir yöntem olabilir (108).

Konjenital CMV enfeksiyonu tanısında doğumdan sonra örneğin alındığı süre ilk 3 hafta ile sınırlandırılmıştır. Çünkü daha geç dönemde örnek alındığında doğum sırasında veya hemen sonrasında bulaşan CMV enfeksiyonu ile intrauterin kazanılan CMV enfeksiyonunu ayırt etmek mümkün olmamaktadır. Doğum sırasında veya hemen sonrasında kazanılan CMV enfeksiyonu inkübasyon süresi 4-12 hafta olarak bildirilmektedir (55). Sunulan çalışmada tüm örnekler hayatın ilk 3 haftasında (ilk 21 günde) alınmıştır.

Bu çalışmada konjenital CMV enfeksiyonu saptanan bebeklerin üçünde semptom saptanmış, beş bebek ise asemptomatik olarak değerlendirilmiştir. Annelerinin gebelik öncesi CMV serolojileri bilinmemekle birlikte, bölgemizde daha önce yapılmış iki çalışmada doğurganlık çağındaki kadınlarda ve gebelerde sırası ile %97,4 ve %98,5 gibi yüksek oranlar bildirilmesi annelerin seroimmün olduğunu düşündürmektedir (37,38). Seroimmün gebelerin bebeklerinde asemptomatik enfeksiyonların daha sık görüldüğü çalışmalarda gösterilmiş olmakla birlikte, semptomatik enfeksiyon olduğunu gösteren yayınlar da vardır. Çalışmamızda 3 bebekte semptom saptanmıştır, ancak primer ya da sekonder maternal enfeksiyon sonucu olup olmadığı ayırtedilememiştir. Çeşitli sekellerin semptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan bebeklerde daha fazla geliştiği bildirilmekle beraber; konjenital CMV enfeksiyonun asemptomatik olması bebeklerin ileride sağlıklı olacağının garantisi değildir; bu bebeklerin %10-15'inde ileriki yıllarda sensorinöral işitme kaybı gelişebilmektedir, ayrıca gelişme geriliği olduğu da bildirilmiştir. Asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan ve ileriki yıllarda işitme kaybı gelişen olgular çeşitli ülkelerde yayınlanmıştır. Ancak, hangi asemptomatik bebeğin risk altında olduğu tam olarak öngörülememektedir (20,109,110,111). Fowler ve ark. işitme kaybının ortanca 27. ayda (aralık 25-62 ay) ortaya çıktığını bildirmişler, 60. aydan sonra ortaya çıkan olgular nedeniyle uzun takibin önemini vurgulamışlardır (27,109). Bazı çalışmalarda sekel gelişecek bebeklerde viral yükün yüksek olduğu belirtilmekle birlikte, viral yük ve sekel gelişimi arasında ilişki olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (112,113).

Konjenital CMV enfeksiyonu tanısı konulduktan sonra bebeklerin bir takip programına alınması önemlidir. Bu takibin; hayatın 3., 6., 12. aylarında ve daha sonra okul çağına kadar yılda 1 defa yapılması; fizik muayene, nörolojik muayene, antropometrik değerlendirme, nörolojik gelişim değerlendirmesi, işitme testi, tam kan incelemeleri, transaminaz-bilirubin düzeyleri ve idrarda virus izolasyonunu içermesi

önerilmektedir (36).

Günümüzde üzerinde en çok durulan konulardan birisi, geç dönemde sekeller gelişebilmesinden dolayı, özellikle asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan bebeklere antiviral tedavi verilmesi konusudur. Bu konuda en kapsamlı çalışma, Lackner ve ark. tarafından 2009 yılında yayınlanmıştır. Araştırmacılar, asemptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan bebeklerin 12'sine Gansiklovir tedavisi vererek, 11'ine ise tedavi vermeden 4-11 yıl boyunca izlemişler, tedavi gören grupta işitme kaybı gözlenmezken, tedavi verilmeyen grupta %11,1 sensörinöral işitme kaybı geliştiğini saptamışlardır (29). Ülkemizde de valgansiklovir tedavisinden fayda gören 1 olgu bildirilmiştir (114). Ancak, gansiklovirin nötropeni gibi ciddi yan etkisinin bulunması nedeniyle yarar zarar ilişkisinin çok iyi irdelenmesi gereklidir.

Bu çalışma, Antalya'da belli bir merkeze başvuran bir grup yenidoğanı kapsamaktadır. Dolayısıyla sonuçları Türkiye'ye genellenemez. Ancak, bu çalışma ülkemizde konjenital CMV enfeksiyonu görülme oranını araştıran ilk çalışmadır. Bir yılı aşkın bir sürede, çok sayıda olgu ile çalışılarak saptanan %0,9 pozitiflik oranı ülkemizde konjenital CMV enfeksiyonu olduğunu göstermektedir. Bundan sonraki aşamada daha kapsamlı, ülke genelini yansıtacak prospektif çalışmalara gereksinim vardır. Yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonu erken tanısı, erken antiviral tedavi ve rehabilitasyon uygulamaları ile bebeklerin yaşam kalitelerinin artmasına olanak sağlarken, konjenital CMV enfeksiyonu tarama programlarının gerekliliğinin tartışılması da gündeme gelecektir.

6. SONUÇLAR

1. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 0-21 günlük bebekler arasında konjenital CMV enfeksiyonu oranı %0,9 olarak saptanmıştır.
2. Konjenital CMV enfeksiyonu olan bebeklerin üçünde semptom saptanmıştır.
3. Konjenital CMV enfeksiyonu ile cinsiyet, doğum haftası, doğum şekli, doğum kilosu, kraniofasiyal anomali varlığı, hiperbilirubinemi, fototerapi ihtiyacı, yoğun bakım ihtiyacı, mekanik ventilasyon ihtiyacı, ailede sağırılık olup olmadığı, annenin gebelik döneminde ateşli hastalık geçirip geçirmediği ve işitme testleri arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır.
4. Konjenital CMV enfeksiyonu tanısında bebeklerin idrarında CMV araştırılması altın standart olmakla birlikte, bu çalışmada idrar örneği alınması sırasında büyük zorluklarla karşılaşılmıştır. Daha kolay bir yöntemle örnek alınması sonraki çalışmaları kolaylaştıracaktır.

7. ÖZET

YENİDOĞANLARDA KONJENİTAL CYTOMEGALOVİRUS (CMV) ENFEKSİYONU GÖRÜLME SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Cytomegalovirus (CMV) konjenital enfeksiyonların en sık sebebi olarak kabul edilmekte ve konjenital CMV enfeksiyonu tüm dünyada canlı doğumların %0,2-2,2'sinde görülmektedir. Bu enfeksiyon çocuklarda nörolojik hastalıkların ve sensörinöral işitme kayıplarının önemli sebeplerinden biri olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonu görülme sıklığının araştırılmasıdır. Bu amaçla Mayıs 2012 - Temmuz 2013 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Odyoloji Polikliniği'ne işitme testi için başvuran, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Kliniği'nde takip edilen ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Kliniği'nde doğumu takiben annelerinin yanında yatmakta olan 0-21 günlük toplam 886 (435 kız ve 451 erkek) bebek çalışmaya alınmıştır. Bebeklerin idrar örneklerinde ticari kit (High Pure Viral Nucleic Acid Kit v17.0, Roche Diagnostics, Almanya) ile DNA ekstraksiyonu yapıldıktan sonra gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi (LightMix Human Cytomegalovirus, TIB MOLBIOL, Almanya) ile CMV DNA araştırılmıştır. Konjenital CMV enfeksiyonu prevalansı %0,9 olarak saptanmıştır, 3 (%37,5) olguda semptom (prematürite ve/veya düşük doğum ağırlığı ve/veya hiperbilirubinemi) bulunmaktadır. Konjenital CMV enfeksiyonu ile cinsiyet, doğum haftası, doğum şekli, doğum kilosu, kraniofasiyal anomali varlığı, hiperbilirubinemi, fototerapi ihtiyacı, yoğun bakım ihtiyacı, mekanik ventilasyon ihtiyacı, ailede sağırlık olup olmadığı, annenin gebelik döneminde ateşli hastalık geçirip geçirmediği ve işitme testi sonuçları arasında istatistiksel bir ilişki saptanmamıştır. Bu çalışma Türkiye'de yenidoğanlarda konjenital CMV enfeksiyonu görülme oranını araştıran ilk çalışmadır. Bir yılı aşkın bir sürede, çok sayıda olgu ile çalışılarak saptanan %0,9 pozitiflik oranı ülkemizde konjenital CMV enfeksiyonu olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: CMV, cytomegalovirus, konjenital enfeksiyon, prevalans, idrar, PCR.

8. ABSTRACT

INVESTIGATION OF CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS (CMV) INFECTION INCIDENCE IN NEWBORNS

Cytomegalovirus (CMV) is considered to be the most common cause of congenital infections and the frequency of congenital CMV infection is 0.2-2.2% of all live births in the world. This infection is recognized one of the most important causes of neurological damages and sensorineural hearing loss in children. Aim of this study is to investigate the prevalence of congenital CMV infection in newborns at Akdeniz University Hospital. A total of 886 (435 female and 451 male) and 0-21 days old babies at Akdeniz University Faculty of Medicine were included into this study, consist from the ones were being hospitalized by their mothers following the birth at Obstetrics and Gynecology Clinic, ones were being followed at Pediatrics Clinic and ones applied for hearing test to Audiology Polyclinic of Otorhinolaryngology Department, between May 2012 and July 2013. CMV DNA has been investigated via real time polymerase chain reaction (with LightMix Human Cytomegalovirus, TIB MOLBIOL, Germany) after DNA extraction by using commercial kit (High Pure Viral Nucleic Acid Kit v17.0, Roche Diagnostics, Germany) in the urine samples of babies. The prevalence of congenital CMV infection was found to be 0.9%, in 3 cases (37.5%) with symptoms (prematurity and / or low birth weight and / or hiperbilirubinemi). No statistical relationship was detected between congenital CMV infection and sex, gestational age at delivery, mode of delivery, birth weight, craniofacial anomalies, hyperbilirubinemia, need for phototherapy, intensive care needs, need for mechanical ventilation, deafness in the family, hearing test result or if the mother underwent spend febrile illness during pregnancy. This study is the first study in Turkey which investigates the prevalence of congenital CMV infection in newborns. For over a year, the positivity rate of 0.9% which was determined by working on numerous cases, shows that congenital CMV infection exists in our country.

Key words: CMV, cytomegalovirus, congenital infection, prevalence, urine, PCR.

9. KAYNAKLAR

1. Dremmler GI. Summary of a workshop on surveillance for congenital cytomegalovirus disease. *Rev Infect Dis* 1991; 13: 315-29.
2. Hanshaw JB. Cytomegalovirus infections. *Pediatr Rev* 1995; 16: 43-9.
3. Grosse S, Ross DS, Dollard SC. Congenital cytomegalovirus infection as a cause of permanent bilateral hearing loss: a quantitative assessment. *J Clin Virol* 2008; 41: 57-62.
4. Raynor BD. Cytomegalovirus infection in pregnancy. *Semin Perinatol* 1993; 17: 394-402.
5. Stagno S, Pass RF, Dworsky ME, Henderson RE, Moore EG, Walton PD, et al. Congenital cytomegalovirus infection: the relative importance of primary and recurrent maternal infection. *N Engl J Med* 1982; 306: 945-9.
6. Stagno S. Cytomegalovirus. In: Remington JS, Klein JO, eds. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders 1995; 389-424.
7. Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics* 1999; 104: 55-60.
8. Gaytant MA, Rours GI, Steegers E, Galama J, Semmekrot B. Congenital cytomegalovirus infection after recurrent infection: case reports and review of the literature. *Eur J Pediatr* 2003; 162: 248-53.
9. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Britto MMM. Birth prevalence and natural history of congenital cytomegalovirus (CMV) infection in a highly seroimmune population. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 522-8.
10. Ahlfors K, Ivarson SA, Johnsson T, Svanberg L. Primary and secondary maternal cytomegalovirus infections and their relation to congenital infection. Analysis of maternal sera. *Acta Paediatr Scand* 1982; 71: 109-13.
11. Ross SA, Fowler KB, Ashrith G. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection born to mothers with preexisting immunity. *J Pediatr* 2006; 148: 332-6.
12. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol* 2007; 17: 253-76.
13. Dollard SC, Grosso SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol* 2007; 17: 355-63.
14. Grosse S, Ross DS, Dollard SC. Congenital cytomegalovirus infection as a cause of permanent bilateral hearing loss: a quantitative assessment. *J Clin Virol* 2008; 41: 57-62.
15. Just Nubling G, Korn S. Primary cytomegalovirus infection in an outpatient setting- laboratory markers and clinical aspects. *Infection* 2003; 31: 318-23.

16. Noyola DE, Mejia- Elizondo AR. Congenital cytomegalovirus infection in San Luis Potosi, Mexico. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 89-90.
17. Ludwig A, Hengel H. Epidemiological impact and disease burden of congenital cytomegalovirus infection in Europe. *Euro Surveill* 2009; 14: 26-32.
18. Morton C, Nance W. Current concepts: newborn hearing screening-a silent revolution. *N Engl J Med* 2006; 354: 2151-64.
19. Iwasaki S, Yamashita M, Maeda M, Misawa K, Mineta H. Audiological Outcome of Infants with congenital cytomegalovirus infection in a prospective study. *Audiol Neurotol* 2007; 12: 31-6.
20. Karen B, Fowler, Dahle AJ. Newborn hearing screening: will children with hearing loss caused by congenital cytomegalovirus infection be missed? *J Pediatr* 1999; 135: 60-4.
21. Barbi M, Binda S, Caroppo S. Diagnosis of congenital CMV infection via dried blood spots. *Rev Med Virol* 2006; 16: 385-92.
22. Foulon I, Naessens A. A 10 year prospective study of sensorineural hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2008; 153: 84-8.
23. Ornoy A, av-Citrin O. Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy. *Reprod Toxicol* 2006; 21: 399-409.
24. Peckham C, Tookey P, Logan S, Giaquinto C. Screening options for prevention of congenital cytomegalovirus infection. *J Med Screen* 2001; 8: 119-24.
25. Grosse SD, Dollard S, Ross DS, Cannon M. Newborn screening for congenital cytomegalovirus: Options for hospital-based and public health programs. *J Clin Virol* 2009; 46, 32-6.
26. Dollard SC, Schleiss MR, Grosse SD. Public health and laboratory considerations regarding newborn screening for congenital cytomegalovirus. *J Inher Metab Dis* 2010; 33(Suppl 2): 249-54.
27. Fowler KB, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus infection and hearing deficit. *J Clin Virol* 2006; 35: 226-31.
28. Yılmaz Çiftdoğan D, Vardar F. Effect on hearing of oral valganciclovir for asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Journal of Tropical Pediatrics* 2011; 57: 2.
29. Lackner A, Acham A, Alborno T. Effect on hearing ganciclovir therapy for asymptomatic congenital cytomegalovirus infection: four to 10 year follow up. *Journal of Laryngology and Otology* 2009; 123: 391-6.
30. Geers AE. Speech, language, and reading skills after early cochlear implantation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130: 634-8.
31. Barbi M, Binda S, Caroppo S. Diagnosis of congenital CMV infection via dried blood spots. *Rev Med Virol* 2006; 16: 385-92.

32. Barbi M, Binda S, Caroppo S. Multicity Italian study of congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Infect Dis* 2006; 25: 156-9.
33. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 680-715.
34. Schlesinger Y, Halle D, Eidelman AI. Urine polymerase chain reaction as a screening tool for the detection of congenital cytomegalovirus infection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: 371-4.
35. Landini MP, Mach M. Searching for antibodies specific for human cytomegalovirus: is it diagnostically useful? When and how. *Scand J Infect Dis* 1995; 99: 18-23.
36. Lazzarotto T, Guerra B, Lanari M, Gabrielli L, Landini MP. New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2008; 41: 192-7.
37. Ataman S, Colak D, Günseren F, Senol Y, Colak T, Aktekin MR, Gültekin M. Investigation of cytomegalovirus seroepidemiology in Antalya with a population-based cross-sectional study and review of related data in Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41: 545-55.
38. Satılmış A, Güra A, Ongun H. CMV seroconversion in pregnant and the incidence of congenital CMV infection. *Turkish J Pediatr* 2007; 49: 30-6.
39. Ho M. The history of cytomegalovirus and its diseases. *Medical Microbiology and Immunology* 2008; 197(2): 65-73.
40. Riley HD Jr. History of the cytomegalovirus. *South Med J* 1997; 90: 184-90.
41. Stango S, Reynolds DW, Amos CS. Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegaloviral and toxoplasma infections. *Pediatrics* 1977; 59: 669-78.
42. Dahle A, McCollister F, Hamner B, Reynolds D, Stagno S. Subclinical congenital cytomegalovirus infection and hearing impairment. *J Speech Hear Disord* 1974; 39: 320-9.
43. Hanshaw JB, Scheiner AP, Moxley AW. School failure and deafness after "silent" congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med* 1976; 295: 468-70.
44. Reynolds DW, Stagno S, Stubbs KG. Inapparent congenital cytomegalovirus infection with elevated cord IgM levels: causal relationship with auditory and mental deficiency. *N Engl J Med* 1974; 209: 291-6.
45. Weller TH. Cytomegaloviruses: A historical Perspective. *Herpes* 2000; 7: 66-9.
46. Başustaoglu A. İnsan Herpesvirusları. In: Mutlu E, Baysan BÖ, Çolak D (eds), *Tıbbi Mikrobiyoloji*, 6. baskı. Atlas Kitapçılık, Ankara 2010; 517-40.
47. Günhan C. Cytomegalovirus infeksiyonları. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M(eds): *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2002; 1191-7.

48. Crumpacker CS. Cytomegalovirus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell Douglas and Bennett's. Principles and Practise of Infectious Diseases. 5th, Churchill Livingstone Philadephia 2000; 1586-99.
49. Ustaçelebi Ş. İnsan Sitomegalovirusu. In: Bilgiç A, Özacar T (eds), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara 1999; 835-41.
50. Crough T, Khanna R. Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. Clin Microbiol Rev 2009; 22: 76-98.
51. Almeida LNB, Azevedo RS, Amaku M, Massad E. Cytomegalovirus seroepidemiology in an urban community of Sao Paulo, Brasil. Rev Sau Publica 2001; 35: 124-9.
52. GA. Viral infections in immuncompromised patients. Essential of Diagnostic Virology. Churchill Livingstone, USA 2000; 204-18.
53. Başustaoğlu A. İnsan Sitomegalovirusu. In: Çolak D (ed), Klinik Mikrobiyoloji Cilt 2. Atlas Kitapçılık, Ankara 2009; 1549-63.
54. Wreghitt TG, Teare EL, Sule O, Devi R, Rice P. Cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. Clin Infect Dis 2003; 37: 1603-6.
55. Kim CS. Congenital and perinatal cytomegalovirus infection. Korean Pediatri 2010; 53: 14-20.
56. Alford CA, Stango S, Pass RF, Britt WJ. Congenital and perinatal cytomegalovirus infections. Rev Infect Dis 1990; 7: 745-53.
57. Becroft DMO. Prenatal cytomegalovirus infection: Epidemiology, pathology and pathogenesis. Perspect Pediatr Pathol 1981; 6: 203-41.
58. Tsutsui Y. Effects of cytomegalovirus infection on embryogenesis and brain development Congenital Anomalies 2009; 49: 47-55.
59. Kaleli B, Kaleli İ, Aktan E, Yurdakul B, Akşit F. Gebelerde rubella ve sitomegalovirus enfeksiyonu. İnfeks Derg 1997; 11: 325-7.
60. Yücel A, Bozdayı G, İmir T. Seroprevalence of TORCHE antibodies among pregnant women in Gazi University Hospital. İnfeks Derg 2002; 16: 279-83.
61. Hızıl S, Parker S, Önde U. Seroprevalence of cytomegalovirus infection among children and females in Ankara, 1995. Pediatrics Int 1999; 41: 506-9.
62. Dollard SC, Ross SD, Grosse SD. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associatedwith congenital cytomegalovirus infection. Rev Med Virology 2007; 17: 355-63.
63. Gaynant MA, Streeters EAP, Semmekrot BA, Merkus HMMW, Galama JMD. Congenital cytomegalovirus infection: Rewiew of epidemiology and outcome. Obstet Gynecol Survey 2002; 57: 245-56.
64. Yayla M. Gebelikte sitomegalovirus enfeksiyonu. ANKEM Derg 1998; 12: 258-62.

65. Wong A, Tan KH, Tee CS, Yeo GSH. Seroprevalence of cytomegalovirus, toxoplasma and parvovirus in pregnancy. *Singapore Med J* 2000; 41: 746-52.
66. Preiksaitis JK, Larke RPB, Froese GJ. Comparative seroepidemiology of cytomegalovirus infection in the Canadian Arctic and an urban center. *J Med Virology* 1988; 24: 299-307.
67. Pass RF, Hutto C, Reynolds DW, Polhill RB. Increased frequency of cytomegalovirus in children in group day care. *Pediatrics* 1984; 74: 121-6.
68. Shen CY, Chang WW, Chang SF, Huang ES, Wu CW. Cytomegalovirus transmission in special-care centers for mentally retarded children. *Pediatrics* 1993; 91: 79-82.
69. Marshall GS, Rabalais GP, Stewart JA, Dobbins JG. Cytomegalovirus seroprevalence in women bearing children in Jefferson County, Kentucky. *Am J Med Sci* 1993; 305: 292-6.
70. Numazaki K, Fujikawa T, Chiba S. Relationship between seropositivity of husbands and primary cytomegalovirus infection during pregnancy. *J Infect Chemother* 2000; 6: 104-6.
71. Giuseppe G, Baldanti, Fausto, Grossi, Paolo, Franco L, Colombo, Paolo, Vigano, Mario, Revello, Grazia M. Diagnosis and monitoring of human CMV infections in transplant recipients. *Rev Med Microbiol, Lippincott Williams&Wilkins Inc* 2001; 12(3): 155.
72. Sia IG, Patel R. New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipient. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 83-121.
73. Razonable RR, Paya CV, Smith TF. Role of the laboratory in diagnosis and management of cytomegalovirus infection in hematopoietic stem cell and solid-organ transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 746-52.
74. Deayton JR. Changing trends in cytomegalovirus disease in HIV- infected patients. *Herpes* 2001; 8: 37-40.
75. Serter D. *Virus, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları*. Nobel Matbaacılık 1997; 141-5.
76. Sissons JGP, Carmichael AJ, McKinney N, Sinclair JH, Wills MR. Human CMV and immunopathology, *Springer Seminars in immunopathology* 2002; 24: 169-85.
77. Zhu J, Shearer GM, Marincola M, Norman JE, Rott D, Epstein SE. Discordant cellular and humoral immune responses to cytomegalovirus infection in healthy blood donors: existence of a Th1-type dominant response. *Int Immunol* 2001; 13: 785-90.
78. Barbi M, Binda S, Caroppa S. A wider role for congenital cytomegalovirus infection in sensorineural hearing loss. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 39-43.
79. Çolak D, Ögünç D. *Sitomegalovirus Enfeksiyonlarında Tanı Yöntemleri*. Flora 1999; 4: 82-9.
80. Landini MP, Mach M. Searching for antibodies specific for human cytomegalovirus: Is it diagnostically useful? When and how. *Scand J Infect Dis* 1995; 99: 18-23.
81. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S(eds). *Herpesviruslar*. In: Çolak D, Mutlu D (eds). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Güneş Kitabevi, Ankara 2004; 113-44.

82. Kimberlin DW, Chin-Yu Lin, Sanchez PJ, Demmler GJ, Dankner W, Shelton M, et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J Pediatr* 2003; 143: 16-25.
83. Dahle AJ, Fowler KB, Wright JD. Longitudinal investigation of hearing disorders in children with congenital cytomegalovirus. *J Am Acad Audiol* 2000; 11: 283-90.
84. Soldan SS, Berti R, Salem N, Secchiero P, Flamand L, Calabresi PA, et al. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: Increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med* 1997; 3: 1394-7.
85. Cheng Y, Li DD, Cheng X, Liu BL, Cheng JL. Distribution of cytomegalovirus DNA in vascular tissues and the relationship between virus and atherosclerogenesis. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi* 2009; 23: 321-4.
86. Whitely RJ, Cloud G, Gruber W, Storch GA, Demmler GJ, Jacobs RF, et al. Ganciclovir treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus infection: results of a phase II study. *J Infect Dis* 1997; 175: 1080-6.
87. Nigro G, Scholz H, Bartmann U. Ganciclovir therapy for symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants: a two regimen experience. *J Pediatr* 1994; 124: 318-22.
88. Michaels MG, Greenberg DP, Sabo DL, Wald ER. Treatment of children with congenital cytomegalovirus infection with ganciclovir. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 504-8.
89. Revello MG, Gerna G. Pathogenesis and prenatal diagnosis of human cytomegalovirus infection. *J Clin Virol* 2004; 29: 71-83.
90. Paixão P, Almeida S, Gouveia P, Vilarinho L, Vaz Osório R. Prevalence of human cytomegalovirus congenital infection in Portuguese newborns. *Euro Surveill* 2009; 14(9): ArticleId=19135.
91. Noorbakhsh S, Farhadi M, Siadati A, Tabatabae A. Study of torch suspected infants, Iran. *J Pediatr* 2005; 15 (1): 87.
92. Siadati SA, Noorbakhsh S. CMV infection in primiparus pregnant women in Tehran, *Acta Med Iran* 2002; 40(3): 136-9.
93. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Moura Brito RM, Isaac ML, Oliveira PFC, Boppana S, Britt WJ. Birth Prevalence and Natural History of Congenital Cytomegalovirus Infection in a Highly Seroimmune Population. *Clinical Infectious Diseases* 2009; 49: 522-8.
94. Stagno S, Dworsky ME, Torres J, Mesa T, Hirsh T. Prevalence and importance of congenital cytomegalovirus infection in three different populations. *J Pediatr* 1982; 101: 897-900.

95. Sohn YM, Park KI, Lee C, Han DG, Lee WY. Congenital cytomegalovirus infection in Korean population with very high prevalence of maternal immunity. *J Korean Med Sci* 1992; 7: 47–51.
96. Noyola DE, Mejia-Elizondo AR, Canseco-Lima JM, Allende-Carrera R, Hernansez-Salinas AE, Ramirez-Zacarias JL. Congenital cytomegalovirus infection in San Luis Potosi, Mexico. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 89–90.
97. Tsai CH, Tsai FJ, Shih YT, Wu SF, Liu SC, Tseng YH. Detection of congenital cytomegalovirus infection in Chinese newborn infants using polymerase chain reaction. *Acta Paediatr* 1996; 85: 1241–3.
98. Dar L, Pati SK, Patro AR. Congenital cytomegalovirus infection in a highly seropositive semi-urban population in India. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: 841–3.
99. Montgomery JR, Mason EO Jr, Williamson AP, Desmond MM, South MA. Prospective study of congenital cytomegalovirus infection. *South Med J* 1980; 73: 590–3, 5.
100. van der Sande MA, Kaye S, Miles DJ. Risk factors for and clinical outcome of congenital cytomegalovirus infection in a peri-urban West-African birth cohort. *PLoS ONE* 2007; 2: e492.
101. Gaytant MA, Galama JM, Semmekrot BA, Melchers WJ, Sporken JM, Oosterbaan HP et al. The incidence of congenital cytomegalovirus infections in The Netherlands. *J Med Virol* 2005; 76(1): 71-5.
102. Griffiths PD, Baboonian C, Rutter D, Peckham C. Congenital and maternal cytomegalovirus infections in a London population. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98(2): 135-40.
103. Ahlfors K, Ivarsson SA, Harris S. Report on a long-term study of maternal and congenital cytomegalovirus infection in Sweden. Review of prospective studies available in the literature. *Scand J Infect Dis* 1999; 31(5): 443-57.
104. Barbi M, Binda S, Primache V, Clerici D, for the NEOCMV Group. Congenital cytomegalovirus infection in a northern Italian region. *Eur J Epidemiol* 1998; 14: 791–6.
105. Soetens O, Vauloup-Fellous C, Foulon I, Dubreuil P. Evaluation of Different Cytomegalovirus (CMV) DNA PCR Protocols for Analysis of Dried Blood Spots from Consecutive Cases of Neonates with Congenital CMV Infections. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 943-6.
106. Boppana SP, Ross SA, Novak Z, Shimamura M. Dried blood spot real-time polymerase chain reaction assays to screen newborns for congenital cytomegalovirus infection. *JAMA* 2010; 303: 1375-82.
107. Koyano S, Inoue N, Nagamori T. Newborn screening of congenital cytomegalovirus infection using saliva can be influenced by breast feeding. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013; 98: F182.

108. Koyano S, Inoue N, Oka A. Screening for congenital cytomegalovirus infection using newborn urine samples collected on filter paper: feasibility and outcomes from a multi-centre large-scale study. *BMJ Open* 2011; 1: e000118.
109. Fowler KB, McCollister FP, Dahle AJ. Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 1997; 130: 624-30.
110. Numazaki K, Fujikawa T. Chronological changes of incidence and prognosis of children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection in Sapporo, Japan. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 22.
111. Faulon I, Naessens A, Faulon W, Casteels A, Gordts F. A 10-year prospective study of sensorineural hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2008; 153: 84-8.
112. Ross SA, Novak Z, Fowler KB. Cytomegalovirus blood viral load and hearing loss in young children with congenital infection. *Pediatr Infect Dis* 2009; 28: 588-92.
113. Boppana SB, Fowler KB, Pass RF, Rivera LB. Congenital cytomegalovirus infection: Association between virus burden in infancy and hearing loss. *J Pediatr* 2005; 146: 817-23.
114. Çiftdoğan DY, Vardar F. Effect on hearing of oral valganciclovir for asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Journal of Tropical Pediatrics* 2011; 57: 132-3.