



Cytomegalovirus (CMV) Enfeksiyonu Tanısı İçin Gönderilen ELISA ve Real Time PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of ELISA and Real-Time PCR Results Sent for the Diagnosis of Cytomegalovirus (CMV) İnfection

Selahattin Ünlü¹, Melahat Gürbüz¹, Gülcan Gencer², Yeliz Çetinkol¹

¹ Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Afyonkarahisar, Türkiye

² Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim AD., Afyonkarahisar, Türkiye

ORCID ID: Selahattin Ünlü: <https://orcid.org/0009-0002-9185-0109> , Melahat Gürbüz: <https://orcid.org/0000-0001-6290-1216>

Gülcan Gencer: <https://orcid.org/0000-0002-3543-041X> , Yeliz Çetinkol: <https://orcid.org/0000-0003-4940-4498>

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Selahattin Ünlü, e-posta / e-mail: drselahattinunlu@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 06-02-2025

Kabul Tarihi / Accepted: 21-03-2025

Yayın Tarihi / Online Published: 30-04-2025

Ünlü S., Gürbüz M., Gencer G., Çetinkol Y. Cytomegalovirus (CMV) Enfeksiyonu Tanısı İçin Gönderilen ELISA ve Real Time PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi., J Biotechnol and Strategic Health Res. 2025;9(1):11-18

Öz

Amaç	CMV enfeksiyonu ile hasta sağ kalımındaki azalma arasındaki anlamlı ilişki nedeniyle CMV enfeksiyonunun takip ve tedavisi çok önemlidir. CMV enfeksiyonunun teşhisi için serolojik test sonuçlarıyla hastaların değerlendirilmesinde önemli sınırlamalar bulunmaktadır; bu durumda viral nükleik asit tespiti en yaygın olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile CMV' nin varlığı ortaya konabilir. Bu iki testin uyum düzeyi ile ilgili yapılan çok fazla sayıda çalışma yoktur; bu sebeple bu çalışmada CMV antikorlarının ve CMV DNA sonuçlarının karşılaştırılması olarak değerlendirilmesini hedeflenmiştir.
Gereç ve Yöntem	Bu çalışmada, Ocak 2022 ile Haziran 2024 tarihleri arasında Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na, hastaların ilgili hekimi tarafından CMV RT-qPCR ve CMV antikor testlerinin çalışılması için eş zamanlı olarak gönderilen 367 numuneye ait sonuçlar, retrospektif olarak değerlendirildi, veriler hastane bilgi işlem sisteminden alındı. Çalışmaya dahil edilen numuneler, önceden şu şekilde çalışıldı: PCR aşamasında Bosphore CMV kantifikasyon kiti kullanıldı. CMV-IgM ve CMV-IgG antikor düzeyleri makro ELISA yöntemiyle (Cobas E 411/Roche) üretici tarafından açıklanan prosedüre göre çalışıldı.
Bulgular	Örneklerin %81'inde (298/367) sonuçlar uyumludur; her iki test sonucu 280 örnekte negatif (%76,2), 18 örnekte pozitif (%4,9) saptandı. IgM test sonucu negatif olan 302 hastanın (% 92,7), PCR test sonucu negatif olarak belirlendi. CMV-PCR testi pozitif olan 40 hastanın yalnızca %45'i IgM testiyle pozitif olarak bulundu. İstatistiksel analizler sonucunda, iki test arasında bu patojeni saptama oranları arasında anlamlı bir fark olduğu gösterilmiştir. (p<0,001).
Sonuç	Her iki testin negatif sonuçları arasında güçlü bir uyum vardır. Aynı uyum pozitif sonuçlar arasında gözlemlenememiştir. Sonuç olarak, klinik uygulamalarda CMV yönetim stratejilerini geliştirmek amacıyla daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak ileri araştırmalar önerilmektedir.
Anahtar kelimeler	CMV, ELISA, IgM, PCR

Abstract

Aim	Due to the significant association between CMV infection and reduced patient survival, the monitoring and treatment of CMV infection are of critical importance. However, there are notable limitations in evaluating patients based on serological test results for CMV diagnosis. In such cases, the detection of viral nucleic acids, most commonly through polymerase chain reaction (PCR), is the preferred method for confirming the presence of CMV. There is a limited number of studies investigating the correlation between these two tests. Therefore, this study aims to comparatively evaluate CMV antibody and CMV DNA test results.
Materials and Methods	In this study, the results of 367 samples, which were simultaneously submitted for CMV RT-qPCR and CMV antibody testing by the attending physicians to the Microbiology Laboratory of Afyonkarahisar Health Sciences University Health Practice and Research Hospital between January 2022 and June 2024, were retrospectively analyzed. The data were retrieved from the hospital information system. The included samples were processed as follows: The Bosphore CMV quantification kit was used during the PCR phase. CMV-IgM and CMV-IgG antibody levels were measured using the macro ELISA method (Cobas E 411/Roche) according to the manufacturer's protocol.
Results	In 81% of the cases (298/367), the test results were concordant; both tests yielded negative results in 280 cases (76.2%) and positive results in 18 cases (4.9%). Among the 302 patients with a negative IgM test result, 92.7% were also negative by PCR testing. Notably, only 45% of the 40 patients with a positive CMV-PCR test were also positive for IgM. Statistical analysis revealed a significant difference in the detection rates of this pathogen between the two tests (p<0.001).
Conclusions	There is a strong concordance between the negative results of both tests. However, the same level of agreement was not observed among positive results. In conclusion, further studies with larger patient cohorts are recommended to improve CMV management strategies in clinical practice.
Keywords	CMV, ELISA, IgM, PCR

GİRİŞ

Cytomegalovirus (CMV), Herpesviridae ailesinin Beta-herpesvirinae alt grubuna ait, lineer çift iplikli, ikozahedral kapsidli ve zarflı bir virüstür.¹ Ailenin diğer üyeleri gibi, CMV de enfeksiyon sonrası konakçıda miyeloid kök hücreleri, monosit, lenfosit ve kemik iliği stromal hücrelerinde latent olarak kalabilir.^{2,3} CMV, genellikle yaşamın erken dönemlerinde, çocukluktan genç yetişkinliğe kadar, enfekte hastaların tükürük, gözyaşı, idrar, dışkı, anne sütü, meni ve diğer vücut sıvılarına maruz kalma yoluyla bulaşır. Ayrıca, kan ürünleri veya organ nakli ile de geçiş yapabilir.^{2,4} İmmünokompetan bireylerde nadiren patojenik etkiler gösterse de, virüs immün yetmezliği olan kişiler için ciddi bir sağlık sorunu oluşturur. Özellikle organ nakli ve kemik iliği transplantasyonu geçiren hastalar, HIV enfeksiyonu olan hastalar, yenidoğanlar ve bağışıklık sistemi tehlikeye giren diğer durumlarda CMV, önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer alabilir.^{2,5} CMV enfeksiyonu, doğrudan etkileriyle organ tutulumları ve dolaylı etkileriyle akut rejeksiyon, kronik allograft hasarı, fırsatçı enfeksiyonlar, bronşiyolitiz obliterans ve koroner vaskülopati ile ilişkilidir. CMV enfeksiyonunun hasta sağkalımını azaltması nedeniyle, bu enfeksiyonun izlenmesi ve tedavisi büyük önem taşımaktadır.⁶ Bu nedenle, enfeksiyonun tanı ve ayırıcı tanısında kullanılan testlerin seçimi ve yorumlanması kritik bir hale gelmektedir. CMV' nin laboratuvar tanısı için çeşitli yöntemler mevcuttur ve bu yöntemler genel olarak moleküler ve moleküler olmayan testler olarak sınıflandırılabilir.⁷ Moleküler olmayan teknikler arasında virüsün kan, idrar veya diğer vücut sıvılarından izole edilmesi veya çoğaltılması (viral kültür);⁸ CMV'ye özgü IgG ve IgM (ELISA) antikorlarının tespiti;⁹ pp65 antijenemi testi gibi lökositlerde virion bileşenlerinin saptanması;¹⁰ ve karakteristik nükleer inklüzyon taşıyan hücrelerin histopatolojik olarak gösterilmesi sayılabilir. Bu testler arasında en yaygın kullanılan yöntem ELISA' dır. Bu amaçla CMV-IgM ve CMV-IgG seviyelerine bakılır. Ancak, CMV-IgM varlığı her zaman akut primer enfeksiyonun göstergesi olmayabilir, bazı durumlar yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. Ayrıca, IgM pozitifliği bazı hastalarda aylarca sürebilir ve CMV

reaktivasyonu sırasında da ortaya çıkabilir.¹¹ Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda akut CMV enfeksiyonunun teşhisi için serolojik test sonuçlarıyla hastaların değerlendirilmesinde önemli sınırlamalar bulunmaktadır. Bu durumlarda, viral nükleik asit amplifikasyon testleri (NAT), en yaygın olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile CMV' nin varlığı belirlenebilir. CMV ile ilişkili komplikasyon riski taşıyan hastaların belirlenmesinde kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR), viral yükün saptanmasında en yaygın yöntemdir.¹² Kandaki viral yükün hassas ve doğru ölçümü, tanı konulmasının yanı sıra tedavi stratejilerinin yönetimi ve hastanın tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde de önemlidir.¹³ Farklı özellikleri nedeniyle çeşitli klinik kullanım alanlarına sahip bu iki testin uyum düzeyi ile ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada CMV antikorları ve CMV DNA sonuçlarının karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve uyum düzeylerinin araştırılması hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Ocak 2022 ile Haziran 2024 tarihleri arasında Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na, hastaların ilgili hekimi tarafından CMV RT-qPCR ve CMV antikor testlerinin çalışılması için eş zamanlı olarak gönderilen 367 numuneye ait sonuçlar, retrospektif olarak değerlendirildi, veriler hastane bilgi işlem sisteminde alındı.

Serolojive CMV Real-Time PCR Analizleri

Çalışmaya dahil edilen numuneler, önceden şu şekilde çalışılmıştır: PCR aşamasında Bosphore CMV Kantifikasyon Kiti (Anatolia Geneworks, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Kitin analitik duyarlılığı 60 IU/ml, lineer aralığı ise 6×10^1 - 1.3×10^7 IU/ml olarak belirlenmiştir. Plazma örneklerinden DNA elde etmek için Magnesia Viral Nucleic Acid Extraction Kit EP (Anatolia Geneworks, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Bu aşamada her bir hasta için 400 µL plazma örneği alınmıştır. Kantitasyon standartları, DNA izolasyonundan itibaren 5×10^2 IU/ml - 5×10^5 IU/

ml aralığında, WHO standartları ile kalibre edilmiş dört serum standardı (NIBSC Code 09/162) ile sağlanmıştır. İzolasyon verimini ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek amacıyla, DNA izolasyonu sırasında proteinaz K-carrier RNA karışımına 5 µL eklenmiştir. Kullanılan PCR master mix, amplifikasyon için gerekli olan HotStart Taq DNA polimerazı, PCR tamponu, dNTP' ler ve CMV genomuna özgü ileri ve geri primerleri içermektedir. Pozitif kontrol olarak, WHO standartları ile kalibre edilmiş CMV DNA kullanılmıştır. Reaksiyon verimini kontrol etmek için pozitif kontrol, izolasyon aşamasından itibaren dahil edilmiştir. PCR için toplam hacim 40 µL olarak ayarlanmıştır (Tablo 1). Termal protokol, HotStar Taq DNA polimerazın aktivasyonu için bir başlangıç denatürasyonu, iki aşamalı amplifikasyon döngüleri ve son bir inkübasyondan oluşmaktadır (Tablo 2). Sinyal, FAM ile işaretlenmiş bir proba FAM kanalından ve HEX ile işaretlenmiş bir proba da iç kontrol HEX kanalından ölçülmüştür. CMV IgM ve CMV IgG antikor düzeyleri, Cobas E 411(Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) cihazı ile makro ELİSA yöntemi kullanılarak üretici tarafından belirtilen prosedüre göre analiz edilmiştir.

Tablo 1. PCR Reaksiyon İçeriği

İçerik	Miktar
PCR Master Mix	23.8 µL
İnternal kontrol	0.20 µL
Örnek DNA'sı	16.0 µL
Toplam Hacim	40.0 µL

Tablo 2. Termal Protokol

Döngü	Sıcaklık	Süre
İlk denatürasyon	95 C°	14:30 dk
Denatürasyon	97 C°	00:30 dk
Bağlanma ve Sentez	53 C°	01:30 dk
İnkübasyon	22 C°	05:00 dk

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler, SPSS sürüm 26.00, MedCalc ve Python 3.12.5 programları kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada tanımlayıcı istatistikler (ortalama, yüzde ve standart

sapma) ve ki-kare testleri ile CMV IgM ve CMV PCR sonuçları arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Ayrıca, her bir testin duyarlılığı (sensitivite), özgüllüğü (spesifisite), pozitif ve negatif kestirim değerleri ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi ile hesaplanmış ve bu değerlerin ROC eğrisi altında kalan alanı (AUC) belirlenmiştir.

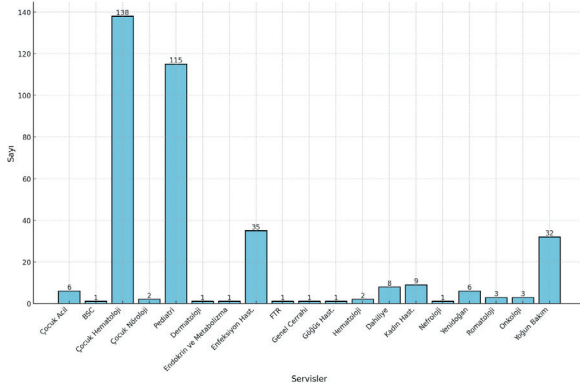
BULGULAR

Bu çalışmada, yaşları 0 ile 89 arasında değişen (ortalama yaş: 14.26 ± 19.36) 194 erkek, 173 kadın hastaya ait toplam 367 örnek incelenmiştir. PCR pozitifliği 40 örnekte tespit edilmiş olup, pozitif vakaların 23'ü 2022 yılında görülmüştür. Pozitif PCR sonuçlarının 23'ü erkeklere, 17'si kadınlara aittir. Yaş gruplarına göre en yüksek PCR pozitifliği %6,2 ile 0-9 yaş aralığında saptanmıştır (Tablo 3). Çalışmaya dâhil edilen örneklerin dağılımı, 2022 yılında 188 örnek (23 pozitif), 2023 yılında 142 örnek (13 pozitif) ve 2024 yılının ilk 6 ayında 37 örnektir (4 pozitif). Laboratuvara gönderilen örneklerin servislere göre dağılımına bakıldığında en fazla örneğin çocuk Hematoloji Servisi'nden gönderildiği tespit edilmiştir (Şekil 1). Eş zamanlı olarak yapılan CMV IgM ve IgG testlerinde, 65 (%17,7) hastada CMV IgM pozitifliği, 353 (%96,2) hastada ise CMV IgG pozitifliği tespit edilmiştir. CMV-DNA PCR ve CMV IgM testlerinin karşılaştırılmasında, Örneklerin %81'inde (298/367) sonuçlar uyumludur; her iki test sonucu 280 (%76,2) örnekte negatif, 18 (%4,9) örnekte ise pozitif olarak belirlenmiştir. IgM testi negatif çıkan 302 hastanın %92,7'sinin CMV PCR sonucu da negatiftir; bu durum, her iki testin negatif sonuçları arasında güçlü bir uyum olduğunu göstermektedir (Tablo 4). Ancak, 40 CMV-PCR pozitif hasta örneğinin yalnızca 18'i (%45) IgM testiyle pozitif olarak tanımlanmıştır. İstatistiksel analiz, iki test arasındaki patojeni saptama oranları arasında anlamlı bir fark olduğunu ortaya koymaktadır ($p < 0,001$). Bu çalışmada ROC eğrisinin altında kalan alan (AUC) değeri 0.65 olarak hesaplanmıştır (Şekil 2); duyarlılık %45, özgüllük %85,6, pozitif kestirim değeri %27,7 ve negatif kestirim değeri %92,7 olarak belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 3. Pozitif CMV PCR ve CMV IgM Test Sonuçlarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

	CMV PCR	CMV IgM	
Yaş	n (%)	n (%)	*n
0-9	23 (6,2)	37 (10)	211
10-19	6 (1,6)	11 (2,9)	83
20-29	4 (1)	7 (1,9)	18
30-39	1 (0,2)	4 (1)	12
40-49	0 (0)	2 (0,5)	9
50-59	3 (0,8)	3 (0,8)	10
60-69	2 (0,5)	1 (0,2)	15
70<yaş	1 (0,2)	0 (0)	9
Toplam	40 (10,8)	65 (17,7)	367

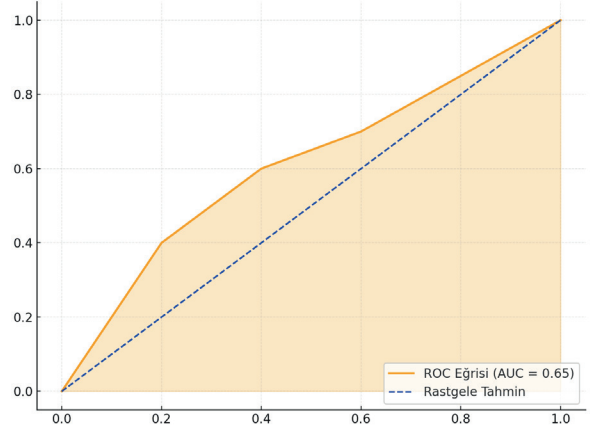
*n: Çalışmaya alınan hasta sayısı



Şekil 1. Çalışmaya alınan örneklerin servislere göre dağılımı

Tablo 4. CMV PCR ve CMV IgM Test Sonuçları Dağılımı

	CMV PCR		
	Pozitif	Negatif	Toplam
CMV IgM Pozitif	n (%)	n (%)	n (%)
	18(4,9)	47(12,8)	65(17,7)
	22(6,7)	280(76,2)	302(82,3)
	40(10,9)	327(89,1)	367(100)



Şekil 2. CMV PCR ve CMV IgM Testlerinin ROC Analizi

Tablo 5. ROC Analizi Sonuçları

Analiz	Değer
Duyarlılık	0.45
Özgüllük	0.86
AUC (Eğri Altındaki Alan)	0.65
Yanlış Pozitif Oranı	0.14
Yanlış Negatif Oranı	0.55
Pozitif Olabilirlik Oranı	3.13
Negatif Olabilirlik Oranı	0.64
Pozitif Kestirim Değeri	0.28
Negatif Kestirim Değeri	0.93
Doğruluk	0.82

TARTIŞMA

Bu çalışmada, CMV tanısında kullanılan serolojik (CMV IgM/IgG ELISA) ve moleküler (CMV-DNA PCR) yöntemlerin performansını karşılaştırmış, yaş, cinsiyet gibi bazı epidemiyolojik faktörlerin tanısal sonuçlara etkisini multidisipliner bir bakış açısıyla değerlendirmiştir. Elde edilen bulgular, CMV yönetiminde kişiselleştirilmiş stratejilerin gerekliliğini vurgularken, gelecek araştırmalar için önemli ipuçları sunmaktadır.

CMV tanısında ELISA ve PCR yöntemleri, farklı klinik senaryolarda birbirini tamamlayan roller üstlenir. ELISA testleri, hızlı sonuç verme ve düşük maliyet avantajına sahiptir. PCR yöntemi ise kantitatif özelliği sayesinde viral yükün izlenmesi ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde

altın standart olarak kabul edilir.¹⁴ Özellikle belirli hasta grupları dışında, CMV-ELISA testleri ile CMV-PCR testleri arasındaki uyum hakkında çok az çalışma bulunmaktadır. Karışık popülasyonlarda bu uyum düzeyi nasıldır? Bu sorudan hareketle, çalışmamızda bu iki test karşılaştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre 40 CMV-PCR pozitif hastanın yalnızca 18'i (%45) CMV-IgM testiyle pozitif olarak tanımlanmış, istatistiksel analizde iki testin patojeni saptama oranları arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Viremiyi saptamada CMV-DNA PCR ile CMV-IgM arasındaki uyum %81, uyumsuzluk ise %19 olarak bulunmuştur. Uyumsuz örneklerin 22'si PCR pozitif, ELISA negatif olarak belirlenmiştir; ELISA negatif örneklerin yarısından fazlasında (%73) viral yük düşük ama pozitif bulunmuştur. Bu durum, PCR yönteminin ELISA yöntemine göre daha duyarlı olduğunu desteklemektedir.¹⁵ Duyarlılığı etkileyen etmenler arasında özellikle immün yetmezlikli hastalarda, klinik hastalığın başlangıcı ile CMV-IgM antikorlarının üretimi arasında uzun bir zaman olması, bağışıklık sistemi baskılanmış bazı hastalarda serolojik yanıt gelişmemesi veya belirgin şekilde gecikmiş ya da zayıf bir yanıtın olması gibi faktörler sayılabilir, bu faktörler yanlış negatif sonuçlara yol açabilir, eğer tanı yalnızca CMV-IgM' nin saptanmasına dayanıyorsa, primer CMV hastalığının tanı ve tedavisi gecikebilir.⁷ Araştırmamızda da, CMV-DNA PCR ile CMV-IgM testlerinin CMV' yi saptama oranları arasında bulunan anlamlı farkın immün yetmezlikli hastalardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir ancak, hastaların immün yetmezlik durumu hakkında detaylı bilgiye ulaşamadığı için kesin bir yorum yapılamamıştır. Benzer durum, belirli hasta gruplarıyla yapılan çalışmalarda da gözlemlenmiştir. Örneğin, ateş, ishal, hepatit, nötropeni ve/veya trombositopeni gibi çeşitli şikayetlerle başvuran 98 böbrek transplantı hastası üzerinde yapılan bir çalışmada, hastalara CMV PCR ve ELISA yöntemiyle CMV IgM testleri uygulanmış; 66 hasta PCR yöntemiyle negatif, 32 hasta pozitif bulunmuştur. PCR ile pozitif bulunan 32 hastanın yalnızca 2 tanesi CMV IgM

testi pozitif olarak belirlenmiştir. Bu farkın immünsüpresif ajanlara bağlı serokonversiyonun gecikmesine bağlı olabileceği ifade edilmiştir.¹⁵ Renal transplant hastalarında serolojik test sonuçları, kan transfüzyonları ve/veya anti-kor bazlı tedaviler nedeniyle yanıltıcı olabilir. Ayrıca, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, özellikle de CMV enfeksiyonunun sık reaktivasyonu nedeniyle, antikor seviyelerindeki dalgalanmalar tanı koymayı zorlaştırabilir. Bu nedenle, serolojinin transplant hastaları arasında sınırlı bir tanısal değeri bulunmaktadır.¹⁶ Transplant alıcıları gibi yüksek riskli gruplar için özetle, PCR' in erken tanıdaki üstünlüğü önemlidir, CMV-DNA PCR, semptom başlangıcından 2-4 hafta önce pozitifleşerek preemptif tedaviye olanak tanır.¹⁰ Ancak, nakil öncesi donör ve alıcı serolojisi, post-transplant CMV riskinin belirlenmesinde hâlâ kritik öneme sahiptir.¹⁷ Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, özellikle organ nakil alıcılarında, CMV serolojisinin en önemli klinik kullanımı, nakil öncesi risk değerlendirmesidir. CMV serolojisi, nakil sonrası primer veya reaktivasyon CMV enfeksiyonu riskini belirlemek için nakil adaylarının (ve donörlerinin) nakil öncesi CMV maruziyetini değerlendirmede faydalıdır.¹⁸ Benzer şekilde, ELISA testi, AIDS'li hastalarda CMV durumunun değerlendirilmesinde de önemlidir; örneğin, immün yetmezlik düzeyi ciddi olduğunda ($CD4$ sayısı <50) hastanın CMV retinitisi veya CMV ile ilişkili diğer hastalıklar geliştirme riskini tahmin etmede klinisyenlere oldukça yardımcıdır.¹⁹ Öte yandan, CMV birçok çekirdekli hücrede latent formda varlığını sürdürebilir;²⁰ bu nedenle PCR, inaktif ve çoğalmayan CMV'yi tespit etme potansiyeline sahiptir. Kalitatif CMV-DNA testleri, latent DNA'yı aktif viral replikasyondan güvenilir bir şekilde ayırt edememekte ve aktif enfeksiyonun şiddetini sınıflandıramamaktadır.^{7,21} Bu çalışmada, CMV-PCR pozitif, CMV-IgM negatif test sonuçlarının bir kısmı bu durumda olan hastalardan kaynaklanabilir.

Araştırmamızda, CMV-IgM pozitif ancak CMV-PCR negatif bulunan 47 (%12,8) hasta tespit edilmiştir. Bu hastalarda CMV-IgM varlığı her zaman akut primer enfeksiyonun göstergesi olmayabilir; çünkü IgM pozitifliği 3-4

ay sürebilir, hatta iki yıla kadar uzayabilir ve reenfeksiyon veya reaktivasyon sırasında da tekrar pozitifleşebilir. Oto-antikor taşıyan hastalarda yalancı pozitif sonuçlar da görülebilir. Bu durumu destekleyen bir çalışmada, böbrek transplant hastalarında CMV enfeksiyonu şüphesiyle yapılan CMV PCR ve CMV ELISA testlerinde, 98 hastadan yalnızca 6'sında CMV IgM pozitif bulunmuş ve bu 6 hastanın sadece 2'sinde CMV PCR pozitif tespit edilmiştir.¹⁵ Bu durum, bazı sağlıklı bireylerde primer enfeksiyondan sonra IgM antikorlarının uzun süre devam etmesinden kaynaklanabilir.¹⁶

Başka bir çalışmada, klinik olarak CMV enfeksiyonu şüphesi olan 26 böbrek transplant hastasında yalnızca 3 hastada her iki test pozitif çıkmış, 19 hastada CMV-PCR negatif, CMV-IgM testi ise pozitif bulunmuştur. Bu durum, yeni bir CMV enfeksiyonundan sonra CMV-IgM antikorlarının serumda kalıcı olması ve serum CMV-IgM konsantrasyonunun enfeksiyondan haftalar, hatta aylar sonra bile tespit edilebilmesinden kaynaklanabilir. Ayrıca, CMV-IgM antikor tespitinin anti-CMV-IgM polipeptitlerinin üretilen modeline bağlı olabileceği ve virüs oluşumundan önce daha erken IgM antikor oluşabileceği bildirilmiştir.²²

CMV IgM testinin düşük duyarlılığı (%45) ve orta düzeyde tanısal doğruluğu (AUC: 0,65), tek başına kullanımını sınırlandırmaktadır. Pozitif kestirim değerinin düşüklüğü (%27,7), özellikle düşük prevalanslı popülasyonlarda yalancı pozitiflik riskini artırır.²³ Buna karşın, PCR ve IgM arasındaki %81 uyum, negatif sonuçlarda kısmi güvenilirlik sağlar.²⁴

Çalışmamızda heterojen bir popülasyon (0-89 yaş) ve uzun dönemli veri seti kullanılarak epidemiyolojik trendler analiz edilmiştir. Örneğin, 2020-2023 yılları arasında PCR pozitifliğindeki %15 artış, pandemi kaynaklı immün baskılanma ile ilişkilendirilebilir.¹⁹ Ancak, retrospektif tasarım ve tek merkezli veri toplama, sonuçların genellebilirliğini sınırlamaktadır. Ayrıca, viral kültür veya an-

tijenemi testlerinin eksikliği, aktif enfeksiyonun doğrulanmasını zorlaştırmıştır.²⁵

CMV PCR ve CMV ELISA sonuçlarının, özellikle CMV enfeksiyonu bulunmayan hastalarda genel olarak uyumlu olduğunu belirtmek mümkündür. CMV enfeksiyonu olan hastalarda ise ELISA ve PCR'ın klinik ihtiyaçlara göre farklı kullanım alanlarının olduğu söylenebilir; örneğin, transplant alıcılarında, CMV ELISA testleri, transplantasyon öncesinde alıcı ve vericide seropozitifliğin belirlenmesinde kullanılır. Ayrıca, immün yetmezlikli hastalarda CMV-PCR testinin, CMV enfeksiyonlarını tespit etmede daha güvenilir bir yöntem olduğu da dikkate alınmalıdır. Hasta grubu ve çalışılacak test yönteminin seçimi, doğru tanı koyma açısından büyük bir öneme sahiptir.

CMV enfeksiyonları, özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan hastalarda ciddi ve hayati tehditler oluşturabilmektedir. Bu nedenle, CMV enfeksiyonlarının erken teşhisi büyük bir önem taşımaktadır. Özellikle immün yetmezlikli ve pediatrik popülasyonlarda PCR'ın öncelikli kullanımı, erken tanı ve etkin tedavi stratejileri için kritiktir. ELISA'nın sınırlı performansı ise klinisyenleri hasta özelliklerine göre yorum yapmaya ve kombine test yaklaşımları benimsemeye zorlamaktadır.

SONUÇ

Her iki testin negatif sonuçları arasında güçlü bir uyum vardır. Aynı uyum pozitif sonuçlar arasında gözlemlenmemiştir. Genel olarak, klinik uygulamalarda CMV yönetim stratejilerini geliştirmek amacıyla daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak ileri araştırmalar önerilmektedir.

Etik Onay

Çalışma için Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Müdahale Olmayan Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (01.11.2024-2024/383).

Yazar Katkıları

Konsept: S.Ü., M.G., Y.Ç., Dizayn: S.Ü., M.G. Y.Ç., Veri
Toplama ve İşleme: S.Ü., G.G., Analiz ve Yorumlama: S.Ü.,
G.G., Literatür Tarama: S.Ü., M.G., Makale Yazımı: S.Ü.,
M.G., G.G., Y.Ç.

Çıkar Çatışması

Bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek

Beyan edilecek mali destek yoktur.

Sunulduğu Kongre

Bu makaleye ait ön veriler, 2024 yılında 12. Ulusal Moleküler ve Tanısal mikrobiyoloji Kongresi'nde "Cytomegalovirus (CMV) Enfeksiyonu Tanısı için Gönderilen ELISA ve Real Time PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi" adlı posterde (Yayın No: EP – 145) sunulmuştur. Makalemiz, bu tebliğin içeriği geliştirilerek ve kısmen değiştirilerek yazılmıştır.

References

1. Mocarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:2629–2673.
2. Emery VC. Investigation of CMV disease in immunocompromised patients. *J Clin Pathol*. 2001;54(2):84–88. doi:10.1136/jcp.54.2.84
3. Sweet C. The pathogenicity of cytomegalovirus. *FEMS Microbiol Rev*. 1999;23(4):457–82. doi:10.1111/j.1574-6976.1999.tb00408.x
4. Stowell JD, Forlin-Passoni D, Din E, et al. Cytomegalovirus survival on common environmental surfaces: opportunities for viral transmission. *J Infect Dis*. 2012;205(2):211–4. doi:10.1093/infdis/jir722
5. Benz C, Mternohen O, Wulf A, et al. Activated virus-specific T cells are early indicators of anti-CMV immune reaction in liver transplant patients. *Gastroenterology*. 2000;5:46–122. doi:10.1053/gast.2002.33021
6. Minz RW, Kumar M, Kanwar DB, et al. Cytomegalovirus infection in postrenal transplant recipients: 18 years' experience from a tertiary referral center. *Transplant Proc*. 2020;52(10):3173–8. doi:10.1016/j.transproceed.2020.08.011
7. 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(3):746–52. doi:10.1128/JCM.40.3.746-752.2002
8. Klemola E, Kääriäinen L. Cytomegalovirus as a possible cause of a disease resembling infectious mononucleosis. *Br Med J*. 1965;2(5463):1099–102. doi:10.1136/bmj.2.5470.1099
9. Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ. Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination surveys, 1988–2004. *Clin Infect Dis*. 2010;50(11):1439–47. doi:10.1086/652438
10. Lanzieri TM, Kruszon-Moran D, Amin MM, et al. Seroprevalence of cytomegalovirus among children 1 to 5 years of age in the United States. *Clin Vaccine Immunol*. 2015;22(3):245–7. doi:10.1128/CVI.00697-14
11. Lazzarotto T, Spezzacatena P, Pradelli P, et al. Avidity of immunoglobulin G directed against human cytomegalovirus during primary and secondary infections. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1997;4(4):469–73. doi:10.1128/cdli.4.4.469-473.1997
12. Bozdemir T, Daloglu AE, Çolak D, et al. Tam otomatize sistemlerde çalışılan sitomegalovirüs polimeraz zincir reaksiyonu test sonuçlarının karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2024;58(3):284–92. doi:10.5578/mb.20249727
13. Limaye AP, Babu TM, Boeckh M. Progress and challenges in the prevention, diagnosis, and management of cytomegalovirus infection in transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2021;34(1):e00043–19. doi:10.1128/CMR.00043-19
14. Boppana SB, Ross SA, Shimamura M, et al. Saliva polymerase-chain-reaction assay for cytomegalovirus screening in newborns. *N Engl J Med*. 2011;364(22):2111–2118. doi:10.1056/NEJMoa1006561
15. Enan KA, Rennett H, El-Eragi AM, et al. Comparison of Real-time PCR to ELISA for detection of human cytomegalovirus infection. *Viol J*. 2011;8:222. doi:10.1186/1743-422X-8-222
16. Heli P. Quantitative PCR in the diagnosis and monitoring of human cytomegalovirus infection in organ transplant patients. PhD Thesis. Helsinki: University of Helsinki; 2004. p. 55–70.
17. Kotton CN. CMV: prevention, diagnosis and therapy. *Am J Transplant*. 2013;13(Suppl 3):24–40. doi:10.1111/ajt.12006
18. Özkaraş E, Özbek ÖA, Oğuz V, et al. Solid organ nakli alıcılarında CMV antijenemi testi ve CMV-DNA PCR sonuçlarının karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(1):44–52. doi:10.5578/mb.10701
19. Dioverti MV, Razonable RR. Cytomegalovirus. *Microbiol Spectrum*. 2016;4(4):DMIH2-0022-2015. doi:10.1128/microbiolspec.DMIH2-0022-2015
20. Larsson S, Söderberg-Naucler C, Wang FZ, et al. Cytomegalovirus DNA detection in peripheral blood mononuclear cells. *Transfusion*. 1998;38(3):271–8. doi:10.1046/j.1537-2995.1998.38398222864.x
21. Paya CV, Wilson JA, Espy MJ, et al. Preemptive use of oral ganciclovir to prevent cytomegalovirus infection. *J Infect Dis*. 2002;185(6):854–60. doi:10.1086/339342
22. Naumnik B, Małyszko J, Chyczewski L, et al. Comparison of serology assays and PCR for monitoring CMV infection. *Transplant Proc*. 2007;39(9):2748–50. doi:10.1016/j.transproceed.2007.08.040
23. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(4):680–715. doi:10.1128/CMR.15.4.680-715.2002
24. Hodson EM, Jones CA, Webster AC, et al. Antiviral medications to prevent cytomegalovirus disease. *Lancet*. 2005;365(9477):2105–2116. doi:10.1016/S0140-6736(05)66553-1
25. Bozdemir T, Daloglu AE, Çolak D, et al. Comparison of CMV PCR results between Roche Cobas 6800 and Qiagen NuMoDx systems. *Mikrobiyol Bul*. 2024;58(3):284–292. doi:10.5578/mb.20249727