



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAĞIRSAK BİYOPSİ ÖRNEKLERİNDE CMV DNA POZİTİFLİĞİNİN
TANISAL DEĞERİNİN RETROSPEKTİF ARAŞTIRILMASI**

Dr. Sema ESEN BOYACI

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2022



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAĞIRSAK BİYOPSİ ÖRNEKLERİNDE CMV DNA POZİTİFLİĞİNİN
TANISAL DEĞERİNİN RETROSPEKTİF ARAŞTIRILMASI

Dr. Sema ESEN BOYACI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: İmran SAĞLIK

BURSA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
İNGİLİZCE ÖZET	v
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
Sitomegalovirus'un Tarihçesi.....	3
Sınıflandırma	3
Virüsün Genel Özellikleri	4
Epidemiyoloji ve Bulaş.....	6
Patogenez ve İmmünite	7
Klinik Bulgular.....	8
Tanı	11
Histopatolojik İnceleme	11
Serolojik Testler	14
Antijenemi Testi.....	15
Viral Kültür	16
Moleküler Yöntemler	16
Sitomegalovirüs Koliti Tanısı.....	17
GEREÇ VE YÖNTEM	19
Kolonoskopi	19
Sitomegalovirüs DNA'nın Saptanması.....	20
Doku Örneklerinde CMV DNA'nın Saptanması.....	20
Kan Örneklerinde CMV DNA'nın Saptanması.....	20
İmmünohistokimya Boyama.....	21
Etik Kurul Onayı.....	22
İstatistiksel Analiz	22
BULGULAR.....	23
TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKLAR.....	43
EKLER	47

EK – 1: Araştırma İzinleri	47
TEŞEKKÜR.....	51
ÖZGEÇMİŞ	51

ÖZET

Sitomegalovirüs (Cytomegalovirus: CMV) primer enfeksiyon sonrasında latent kalarak kök hücre ve solid organ alıcıları, Human immunodeficiency virus (HIV)'le enfekte kişiler, hematolojik malignitesi olanlar ve inflamatuvar bağırsak hastalığı olanlarda sekonder enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Hastalık pnömoni, retinit, kolit şeklinde görülebilir. CMV koliti tanısında dokuda CMV'nin gösterilmesi önerilmektedir. Çalışmamızın amacı, CMV koliti şüpheli hastaların bağırsak biyopsilerinde CMV DNA tespitinin tanısal değerini incelemektir.

Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2019 – Mart 2022 tarihleri arasında CMV koliti şüphesiyle gönderilmiş biyopsi örnekleri retrospektif olarak incelendi. Eş zamanlı olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle bağırsak dokusunda CMV DNA araştırılan ve Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda immünohistokimya (İHK) yöntemiyle CMV aranan 96 örnek çalışmaya dahil edildi. İHK incelemesi altın standart kabul edilerek dokuda ve kanda tespit edilen CMV DNA'nın tanıdaki yeri araştırıldı.

Örneklerin 81'i ülseratif kolit (ÜK), altısı kök hücre ve solid organ nakli, dördü hematolojik malignite, ikisi Crohn, biri kronik böbrek yetmezliği, biri Behçet, biri diyabetes mellitus tanılı hastalara ait idi. İHK yöntemiyle 10, PZR yöntemiyle ise 61 dokuda, ayrıca CMV DNA araştırılan 43 plazmanın 25'inde pozitiflik saptandı. En büyük grubu oluşturan ÜK hastalarına istatistiksel analizler uygulandı. İHK incelemesine göre plazma CMV DNA'nın duyarlılığı %100, özgüllüğü %48,64, pozitif prediktif değeri (PPD) %24, negatif prediktif değeri (NPD) %100 olarak bulunurken; doku CMV DNA'nın duyarlılığı %100, özgüllüğü %41,9, PPD'si %15,68, NPD'si %90,12 olarak saptandı. ROC analiziyle dokuda 392 kopya/mg, plazmada 578 kopya/ml üzeri değerlerin tanı için yol gösterici olduğu belirlendi.

Doku ve kan örneklerinde CMV DNA PZR testinin yüksek duyarlılık ve düşük özgüllükte olduğu görülmüştür. Dokuda CMV DNA kantitasyonu için standardize yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: CMV enfeksiyonları, CMV koliti, PZR, inflamatuvar bağırsak hastalığı

SUMMARY

Cytomegalovirus remains latent after primary infection, causing secondary infections in stem cell and solid organ recipients, Human immunodeficiency virus (HIV) infected individuals, those with hematological malignancies, and those with inflammatory bowel disease. The disease can be seen in pneumonia, retinitis, and colitis. Pathological detection of CMV in tissue is recommended for diagnosing CMV colitis. Our study aims to examine the diagnostic value of CMV DNA detection in intestinal biopsies of patients with suspected CMV colitis.

Biopsy samples sent to Bursa Uludağ University Health Center Medical Microbiology Laboratory between January 2019 and March 2022 with the suspicion of CMV colitis were analyzed retrospectively in this study. Simultaneously, 96 samples which CMV DNA was investigated in intestinal tissue by polymerase chain reaction (PCR) method, and CMV was searched by immunohistochemistry (IHC) method in the Medical Pathology Laboratory were included in the study. IHC examination was accepted as the gold standard, and the place of CMV DNA detected in tissue and blood in the diagnosis was investigated.

Of the samples, 81 belonged to patients with ulcerative colitis (UC), six with stem cell and solid organ transplants, four with hematological malignancies, two with Crohn's, one with chronic renal failure, one with Behçet's, and one with diabetes mellitus. Statistical analyses were performed for the UC patients' data, which constitute the largest group. Positivity was detected in 10 tissues by IHC method, in 61 tissues by PCR method, and in 25 of 43 plasmas for which CMV DNA was investigated. Based on the IHC examination, the sensitivity of plasma CMV DNA was 100%, the specificity was 48.64%, the positive predictive value (PPV) was 24%, and the negative predictive value (NPV) was 100%. The sensitivity of tissue CMV DNA method was 100%, specificity was 41.9%, PPV was 15.68%, and NPV was 90.12%.

With ROC analysis, values above 392 copies/mg in tissue and 578 copies/ml in plasma were found as important clues for diagnosis.

It was observed that the CMV DNA PCR test in tissue and blood samples has high sensitivity and low specificity. Standardized methods are needed for the quantification of CMV DNA in tissue.

Keywords: CMV infections, CMV colitis, PCR, inflammatory bowel disease

GİRİŞ VE AMAÇ

Sitomegalovirus (Cytomegalovirus: CMV), Herpesvirales takımında yer alan Herpesviridae ailesinin bir üyesidir (1). CMV enfeksiyonu insanlarda yaygındır ve çoğunlukla asemptomatik olarak geçirilir. Seroprevalans, yaşa ve coğrafik dağılıma göre %40-100 arasında değişebilir (2). Primer enfeksiyon genellikle erken çocuklukta geçirilir ve sonra virüs, vücutta yaşam boyu latent olarak kalır (3). Bağışıklığın baskılandığı veya yetersiz olduğu durumlarda bu latent virüs reaktif olarak lokal veya sistemik seyreden sekonder enfeksiyonlara neden olabilir. Sekonder enfeksiyonlarda özellikle organ nakli yapılan, malignitesi olan, immünsüpresif ilaç kullanan, inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) olan ve Human immunodeficiency virus (HIV) ile enfekte kişiler etkilenmektedir (4).

Gastrointestinal sistem tutulumu CMV enfeksiyonlarında sık görülür. Buradaki enfeksiyon genellikle sekonder yani reaktivasyon kaynaklıdır (5). Gastrointestinal sistemde en çok tutulan bölgeler kolon ve üst gastrointestinal kanaldır (6). Hastalarda ishal, kilo kaybı, karın ağrısı, disfaji ve kanlı dışkılama gibi ayırt edici olmayan bulgular ortaya çıkar. Jae-Hoon Ko ve arkadaşları hematokezya ve diyarenin bu hastalarda en sık görülen iki semptom olduğunu bildirmiştir (7). Bu semptomlar İBH olan kişilerde de sık görülür. Dolayısıyla, ortaya çıkan tablonun İBH alevlenmesinden mi, yoksa CMV enfeksiyonundan mı kaynaklandığı klinik bulgularla ayırt edilemez.

Sitomegalovirüs reaktivasyonu İBH olan kişilerde özellikle de ülseratif kolit (ÜK) hastalarında siktir. Aktif ülseratif koliti olan hastalara verilen immünsüpresif tedavilerin CMV ile ilişkili kolit için bir risk faktörü olduğu çalışmalarda ortaya konmuştur (8). Bunun yanında CMV'nin ÜK için tetikleyici olduğunu öne süren çalışmalar da mevcuttur ancak halen virüsün tesadüfi bir eşlikçi mi yoksa tetikleyici mi olduğu anlaşılamamıştır (9). Hastalarda ayırıcı tanıyı sağlamak ve etiyojijiyi tespit etmek zordur ve genellikle birden fazla tanı yöntemi birlikte kullanılmaktadır. Ülseratif kolit semptomları ile CMV

enfeksiyonu bulguları benzer olmakla birlikte tedavi oldukça farklıdır. Bu nedenle, tedavinin uygun şekilde yönetilebilmesi için kesin tanı gerekmektedir.

Sitomegalovirüs koliti tanısında histolojik ve serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bunların yanında hastaların plazma veya bağırsak biyopsi örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile CMV DNA'nın gösterilmesi yol göstericidir (10). Doku örneğinde CMV'ye özgün antijenlerin immünohistokimya (İHK) boyama yöntemiyle gösterilmesi özgünlüğü yüksek bir tanı testidir ve altın standart kabul edilir (2). Şüpheli klinik bulguları olan hastaların bağırsak biyopsi örneklerinde hematoksilin-eozin (HE) boyası ile CMV ile ilişkili tipik viral inklüzyonların gösterilmesi klasik bir yöntem olup, özgünlüğü yüksek olmakla birlikte duyarlılığı oldukça düşüktür (11). Duyarlılıklarının düşük olması ve değerlendirmenin subjektif olması bu histopatolojik yöntemlerin kısıtlılıklarıdır. Son yıllarda moleküler testlerdeki gelişmeler sayesinde PZR yöntemiyle CMV DNA'nın gösterilmesi, teknik açıdan nispeten kolaylaşmıştır ve bu yöntem oldukça duyarlıdır (12). CMV DNA kan (plazma, serum) veya doku örneklerinde saptanabilir. Bununla birlikte kolonda lokalize bir enfeksiyonda dokudaki CMV kana yayılmayabilir, dolayısıyla virüs kan örneklerinde gösterilemeyebilir. Doku örneği, kolonoskopi gibi zahmetli bir işlemle elde edilse de CMV kolitinde dokuda CMV'nin gösterilmesi daha doğru ve özgün tanı sağlamaktadır. Ancak kanda ve dokuda CMV DNA saptanmasının veya ölçülen CMV DNA miktarının nasıl yorumlanacağı konusunda net bilgiler bulunmamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalar olmakla birlikte CMV kolit tanısı için güvenilir bir kanıt oluşturabilecek örnek türü ve CMV DNA miktarı henüz belirlenememiştir.

Çalışmamızın amacı gastrointestinal sistem bulguları nedeniyle kolonoskopi yapılan hastaların bağırsak doku biyopsi örneklerinde CMV varlığının tanısal değerinin araştırılmasıdır.

GENEL BİLGİLER

Sitomegalovirus'un Tarihçesi

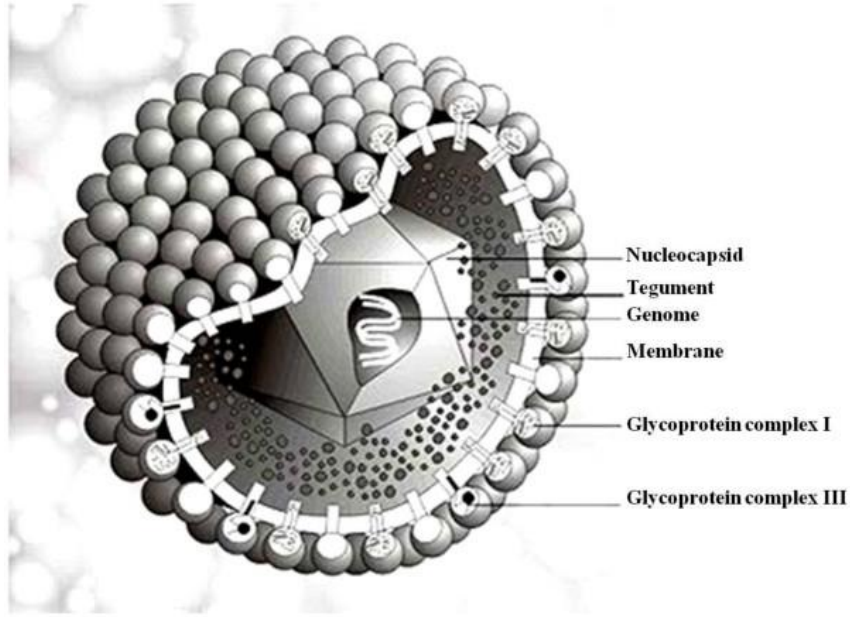
Sitomegalovirüs ilk olarak 1881 yılında Alman bilim adamları tarafından otopsi yapılan bebeklerin böbrek hücrelerinde meydana getirdiği intranükleer inklüzyonlarla keşfedilmiştir. Inklüzyonlara sahip olan bu hücrelerin normal hücrelerden büyük olduğu gözlenmiş ve bu hücreler 'protozoa' benzeri hücre olarak kabul edilmiştir (13). Daha sonra Lipschuetz tarafından, Herpes zoster ve Herpes genitalis ile enfekte olmuş insanlarda da protozoa benzeri hücre yapıları fark edilmiş ve bu tür anormal hücrelerin virüslerle ilişkili olabileceği fikri ortaya atılmıştır. Bu, intranükleer inklüzyonlara sahip hücrelerin Herpesviridae olarak adlandırılan virüslerle ilişkili olabileceğinin ilk göstergesi olmuştur. Smith tarafından 1956'da bir fare hücrelerinden ve daha sonra Smith, Rowe ve Weller'in öncülük ettiği üç farklı araştırma grubu tarafından insan tükürük bezi hücrelerinden izole edilmiştir. İlk izole edildiği doku nedeniyle önce 'salivary gland virus' olarak adlandırılmış daha sonra Weller tarafından virüsün hücrelerde sebep olduğu inflamasyona bağlı olarak hücrelerin büyümesinden dolayı Cytomegalovirus (cyto: hücre, mega: büyük) adı kullanılmıştır (14).

Sınıflandırma

Herpesvirales takımındaki Herpesviridae ailesinde yer alan CMV, Virüs Taksonomi Komitesi tarafından insan herpes virüsü 5 (HHV-5) olarak adlandırılmıştır. Herpesviridae ailesinin içinde herpes simpleks virüs tip 1 (HSV-1) ve 2 (HSV-2), Varicella-Zoster virüs (HHV-3), Epstein-Barr virüs (HHV-4), HHV-6, HHV-7 ve HHV-8 bulunmaktadır. İnsan Sitomegalovirüsü tükürük bezlerine tropizm göstermesi, hücre kültüründe yavaş büyümesi ve türe özgül olmasıyla diğer hayvan türlerinin Sitomegalovirüsleri ile Betaherpesvirinae alt familyasına aittir (15).

Virüsün Genel Özellikleri

Sitomegalovirüs, 120-200 nm çapında lineer çift iplikli bir DNA virüsüdür. 230 Kbp uzunluğundaki genomuyla insan herpesvirüsleri arasında en büyük genoma sahiptir. İç kısmında viral genomu çevreleyen ikozahedral kapsid, ortada tegument veya matriks ve en dışta fosfolipidden zengin zarf bölümlerinden oluşur. CMV'nin morfolojik yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: CMV yapısı (16)

Nükleik asidi paketleyen kapsid, majör ve minör olmak üzere iki ana protein içerir. Majör kapsid proteini (pUL86) yapısal olup, minör kapsid proteini (pUL46) DNA ile birleşmektedir. Ek olarak assemblin proteini (pUL80) olarak adlandırılan, virüsün konak hücrede olgunlaşmasında rol oynayan bir protein de bulunur. Matriks proteinleri 20 adet olup %95'ini ppUL83 diğer adıyla pp65 oluşturur. Kan örneklerinde virüsün gösterilmesinde kullanılan bir yöntem olan antijenemi testinde lökositlerde bulunan pp65 antijeni araştırılmaktadır. Bu protein aynı zamanda MHC-I sitotoksik T lenfositlerin hedefidir. Kapsidi çevreleyen lipit kompleks glikoprotein içerir. Bunların en önemlileri virüsün hücreden hücreye geçişine ve füzyonuna yardımcı olan Glikoprotein B (gpUL55) ve virüsün konak hücreye adezyonunda rol oynayan Glikoprotein

H'dir. Diğer bir fosfoprotein ise 'upper matriks protein' olarak adlandırılan tegüment proteini ppUL82 (pp71) olup kuvvetli bir transaktivatördür.

Viral replikasyon diğer DNA virüslerinde olduğu gibi konak hücre çekirdeğinde gerçekleşir. Replikasyonda ilk aşama virüsün zarf glikoproteinleri ile hücre yüzeyine tutunması ve penetrasyonudur. Viral zarf ile konak hücre membranı arasında gerçekleşen direkt füzyon olayı, bütün Herpesviridae ailesi üyelerinde korunmuş olan bazı glikoproteinler tarafından yönetilir. Özellikle heparan sülfat ve glikoprotein H ile hücre yüzey reseptörleri arasındaki ilişki önemli rol oynar. Tutunmada beta-2 mikroglobülin molekülü de hücre yüzey reseptörleri ile viral glikoproteinler arasında köprü oluşturarak rol alır. Füzyon sürecini penetrasyon izler ve sitoplazmada serbest kalan nükleokapsid, tübülün mikrotübül ağı ile nükleer pora taşınır. Viral DNA çekirdeğe ulaştıktan sonra lineer yapıdan sirküler yapıya geçer. Böylece üç aşamada gerçekleşen transkripsiyon başlar. İlk olarak yeni protein sentezine gereksinim duymadan eksprese edilen düzenleyici tegüment proteinleri tarafından 'en erken' veya ' α ' genlerinin transkripsiyonu başlatılır. Bu gen ürünlerinin viral genom üzerinde düzenleyici etkileri vardır. İkinci aşamada 'erken' veya ' β ' genlerin transkripsiyonu gerçekleşir. Bu genlerin birçoğu viral DNA replikasyonunda ve protein fosforilasyonunda önemli olan enzimleri (DNA polimeraz gibi) kodlar. En son aşamada da çoğunluğu virüsün yapısal proteinlerini (zarf glikoproteinleri ve nükleokapsid proteinleri) kodlayan 'geç' veya ' γ ' genler transkripsiyona uğrar. Geç genlerin ekspresyonu viral DNA sentezi başladıktan sonra maksimum düzeye ulaşır. Viral DNA replikasyonu kritik bir aşama olup erken fazda sentezlenen DNA polimeraz ile kontrol edilir. Sentezlenen viral genomların kapsidle çevrelenmesi için, sitoplazmada sentezlenen kapsid proteinleri nükleusa taşınır. DNA'yı içine alan nükleokapsidler çekirdek zarından zarflarını alarak perinükleer sisternalardan tomurcuklanır ve sitoplazmik veziküller içinde hücre zarına taşınıp ekzositozla salınırlar. Replikasyon yaklaşık 48-72 saat sürer. En erken gen ürünleri replikasyonda düzenleyici olan proteinlerin sentezinden sorumlu olduğundan ekspresyonu hızlıdır, erken ve geç gen ürünlerinin ekspresyonu ise daha yavaştır ve 72-96 saat sonra en yüksek düzeye ulaşır.

Fibroblastlar, epitel hücreleri, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri akciğerde ve gastrointestinal sistemde CMV replikasyonunun gerçekleştiği ana hücrelerdir. Enfekte ettiği hücrelerde hem nükleer hem intrasitoplazmik inklüzyonlar oluşturur. Enfekte hücre büyür, çekirdekteki inklüzyonlar çekirdek membranından ayrılır, bu görünüm baykuş gözü (owl's eye) olarak adlandırılır (14,17,18).

Epidemiyoloji ve Bulaş

Sitomegalovirüs, mevsimsel ve coğrafik özelliklerden bağımsız tüm dünyada yaygın olarak görülen bir enfeksiyon etkenidir. Virüs primer enfeksiyonla birlikte vücutta hayat boyu latent olarak kalır ve reaktivasyonla sekonder enfeksiyonlara yol açabilir. Bilinen tek kaynak insandır. Virüsle ilk karşılaşma hayatın erken dönemlerinde olup seroprelavans yaşla birlikte artar. Prevalans sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha yüksektir. Avrupa, Avustralya, Kuzey Amerika ülkelerinde seroprevalans %50-60 iken; Afrika, Güneydoğu Asya, Güney Amerika ve Hindistan'da genel olarak daha yüksek olup okul öncesi dönemde çocukların %90'dan fazlası seropozitifdir (4).

Ülkemizde CMV seroprevalansı çeşitli hasta gruplarında ve özellikle gebelerde araştırılmış ve %85-100 arasında seropozitiflik bildirilmiştir (19,20). Yapılan çalışmalarda 0-6 yaş grubunda %68-82, 6-14 yaş grubunda %79,5-92 ve 15 yaş üstünde %90,2-97,8 olarak rapor edilmiştir (20).

Sitomegalovirüs tükürük, semen, idrar, gözyaşı, dışkı, vajinal sekresyonlar, anne sütü, kan gibi pek çok vücut sıvısında bulunduğu için; cinsel ilişki, kan transfüzyonu, solid organ veya kemik iliği nakli, emzirme ve virüsü saçan kişilerle yakın temas gibi çeşitli yollarla bulaş olabilmektedir. Enfeksiyon gebelik döneminde geçirildiğinde ise transplasental geçişle fetüs enfekte olabilir ve bu enfeksiyon hayat boyu kalıcı etkiler bırakabilir (21).

Patogenez ve İmmünite

Sitomegalovirüs litik bir virüstür. Enfekte hücrelerde patolojik olarak karakteristik bulgusu virüsün adını aldığı baykuş gözüne benzetilen sitomegalik hücrelerdir. Bu hücreler camsı görünümde bazofilik iri nükleer inklüzyonlara (15-25 µm çapta) sahiptir. Nükleer inklüzyonların çevresinde halo izlenir. Hücrelerin sitoplazmasında da kümeler halinde küçük granüler bazofilik veya eozinofilik viral inklüzyonlar bulunur (10). İnküzyonlar küçük damar endotelleri, fibrositler, makrofajlar ve epitel hücrelerinde görülür. Akut enfeksiyondaki viremi sırasında virüs monositler, makrofajlar ve T lenfositlerinden izole edilebilir.

Hücrel immünite CMV enfeksiyonlarında en önemli konak savunmasıdır. Normal konakta primer CMV enfeksiyonunu takiben oluşan antikorlar viral persistansı kontrol eder. CMV hastalığının en sık sebebi latent virüs reaktivasyonudur. İmmün yetmezlik durumlarında viral partiküller çoğalmaya başlar ve lökositlerle vücudun çeşitli bölgelerine taşınır. CMV, bazı hücrel proteinlerin ekspresyonunu artırarak veya azaltarak hücre çoğalması gibi bazı konak fonksiyonları bozabilmektedir. Örneğin lenfosit ve monositlerin sitokin üretimini ve sitokinlere yanıtını azaltır. Bu da immün yanıtı baskılayarak enfeksiyonun ilerlemesine katkı sağlar.

İmmün sistemi sağlam kişilerde CMV'nin gastrointestinal hastalığı nadirdir. İmmün yanıtı yetersiz hastalarda ise kolon tutulumu sık görülür (2). CMV koliti immünsüprese hastalarda hemen daima reaktivasyon sonucu meydana gelirken, immün sistemi sağlam kişilerde genellikle primer CMV enfeksiyonuna eşlik eder. CMV, enflamasyonlu dokuda çoğalan endotelial hücrelerde reenfeksiyon için eğilim oluşturur. Kolondaki mukozal hasar ve enflamasyon, CMV ile enfekte makrofajların hasarlı dokuya göçünü uyarır. CMV kolitinde başlangıçta enfeksiyon bölgesinde meydana gelen enflamasyon sulu ishale neden olur. Mukozadaki erozyon ve ülserin derinliği arttıkça kan damarlarına hasar verir, bu da kanlı ishalelere yol açar. Zaman içinde ilerleyen enflamasyon ve vaskülit, şiddetli iskemiye ve bağırsağın

transmural nekrozuna neden olabilir. Bu durum perforasyon ve peritonit ile sonuçlanabilir.

Klinik Bulgular

Sitomegalovirüsün neden olduğu klinik tablolar konağın immün durumuna göre değişmektedir. Bağışıklık sistemi sağlam çocuklar ve yetişkinlerin büyük çoğunluğu primer enfeksiyonu asemptomatik olarak geçirir. Bazen de enfeksiyöz mononükleoz sendromuna benzer bir klinik tabloya sebep olabilir. Ateş, halsizlik, atipik lenfositoz ve hepatit (karaciğer enzimlerinde yükselme) meydana gelebilir. Hafif seyirlidir ve kendiliğinden geriler. Lenfadenopati ve splenomegali nadir de olsa görülebilir (22). Anne primer CMV enfeksiyonunu ilk trimesterde geçirirse intrauterin geçişle fetal enfeksiyon riski yüksektir. CMV enfeksiyonu olan yenidoğanlarda intrauterin büyüme geriliği, sarılık, hepatosplenomegali, peteşi, trombositopenik purpura, miyokardit, pnömoni, merkezi sinir sistemi anormallikleri, sağırılık ve koryoretinit gibi bulgular görülebilir (23). Olguların %10'una tek bulgu sağırılık olabilmektedir (24). Yenidoğan döneminde enfeksiyonun klinik bulgusu olmasa bile, yani asemptomatik geçirilse bile, ilerleyen zamanlarda işitme kaybı, görme bozukluğu veya psikomotor ve/veya santral sinir sistemi tutulumu gelişebileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur (25). İntrauterin bulaş dışında; doğum sırasında vajinal sekresyonlara maruziyet veya doğumdan sonra anne sütü yoluyla perinatal ve postnatal bulaş da söz konusu olabilir. Bu durumda genellikle kalıcı hasar oluşması beklenmez. Ancak preterm yenidoğanlarda klinik tablo ağır seyredebilir; hepatosplenomegali, nötropeni, trombositopeni, atipik lenfositoz, hemolitik anemi, pnömoni ve nekrotizan enterokolit nedeniyle morbidite ve mortalite artışına neden olabilir.

Sitomegalovirüs immün yetmezliği olanlarda sekonder enfeksiyon şeklinde sık görülmekte ve daha ağır seyretmektedir. Bu hasta grubunu AIDS hastaları, immün sistemi baskılayıcı ilaç kullananlar, kemoterapi alan kanser hastaları, solid organ ve hematopoetik kök hücre nakil alıcıları oluşturur. Organ nakli alıcılarında nakledilen organın konakta sağlıklı bir şekilde çalışabilmesi

ve reddinin önlenmesi için hayat boyu uygun şekilde immün baskılanmanın sağlanması gerekir. Bu sebeple CMV gibi latent virüsler bu hastalar için ayrıca önem taşımaktadır (26). Ayrıca bu hastalarda serogenatif alıcıya CMV içeren kan veya organ nakli yapılmasıyla da primer enfeksiyon gelişebilir. Nakledilen organ CMV için ilk tutulum alanını oluşturur ve bazen spesifik organ hasarı görülebilir. Karaciğer naklinde hepatit, pankreas naklinde pankreatit, akciğer naklinde pnömoni, kalp naklinde myokardit görülmektedir. Kök hücre naklinden sonra pnömoni ile ilişkili CMV enfeksiyonu önemli bir mortalite nedenidir. Hematopoetik kök hücre nakillerinde seropozitif vericiden, seronegatif alıcıya CMV bulaşını önlemek için lökosit içermeyen kan ürünleri kullanılmalıdır. CMV bu hastalarda gastrointestinal kanalı da etkileyebilir. Kolonoskopide submukozaya uzanan derin ülserler görülür ve bazen CMV enfeksiyonu ile Greft Versus Host hastalığı ayrımı zor olmaktadır (27).

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda klinik bulgu olmadan PZR testi ile CMV DNA pozitifliği görülebilir (latent viral DNA veya düşük düzey replikasyon) veya bu pozitifliğe farklı düzeylerde klinik bulgular eşlik edebilir. Bu hastalarda klinik bulgulara göre bir tanımlama yapılmaktadır. CMV enfeksiyonu; CMV'ye bağlı semptom veya bulgular olmaksızın; herhangi bir vücut sıvısında [plazma, serum, tam kan, periferik kan lökositleri, beyin omurilik sıvısı (BOS), bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısı, idrar] veya doku örneğinde virüs izolasyonu veya viral proteinlerin (antijenler) veya nükleik asidin tespitiyle CMV replikasyonunun kanıtının olması olarak tanımlanır. CMV sendromu ise; halsizlik, ateş, atipik lenfositoz, lökopeni veya nötropeni, trombositopeni ve karaciğer fonksiyon testlerinin yükselmesi bulguları ile beraber kanda CMV'nin saptanmasıdır. CMV hastalığı tanımı ise CMV'ye atfedilebilir semptom ve bulguların varlığıyla beraber CMV enfeksiyonunun kanıtının olması şeklinde yapılmaktadır. Viral sendrom (CMV sendromu) ve hedef organ hastalığı şeklinde tanımlanabilir. Hastalarda genellikle ateş, iştahsızlık ve halsizlik görülürken bazen miyalji, artralji ve artrit de meydana gelebilir. Bazı hastalarda 3 - 4 hafta süren ateş tek bulgu olabilir.

HIV ile enfekte kişilerde CMV enfeksiyonları daha ağır, uzun seyirli ve komplikasyonlarla birlikte seyredebilmektedir. Enfeksiyonların çoğu

reaktivasyon şeklinde olup tipik olarak CD4 sayısı <50 hücre/mm³ olduğunda ortaya çıkmaktadır. Antiretroviral tedavi sayesinde HIV ile enfekte kişilerde CMV hastalığı %70-80 oranında daha az görülse de hedef organ hastalığı ve AIDS ile ilişkili mortalite için önemli bir risk faktörü olmaya devam etmektedir. Diğer hasta gruplarına göre retinit ve kolit daha sık görülür. Kolit perforasyona ve akut batına neden olabilmekle birlikte genellikle iştahsızlık, kilo kaybı, karın ağrısı, diyare ve halsizlik şeklinde belirti verir. CMV retiniti, nekrotizan bir retinittir. Atılmış pamuk lekelerine benzeyen telanjiektazi, mikroanevrizmalar ve retina kanaması şeklinde görülen bir mikroanjiyopatidir. Atılmış pamuk lekeleri görüntüsü, hem HIV retinopatisinde hem de CMV retinitinde en yaygın bulgudur. Hastalar tedavi edilmediğinde retinal hücrelerde kalınlaşma, ilerleyici harabiyet ve optik sinire doğrudan hasar sonucu körlük gelişebilir (28).

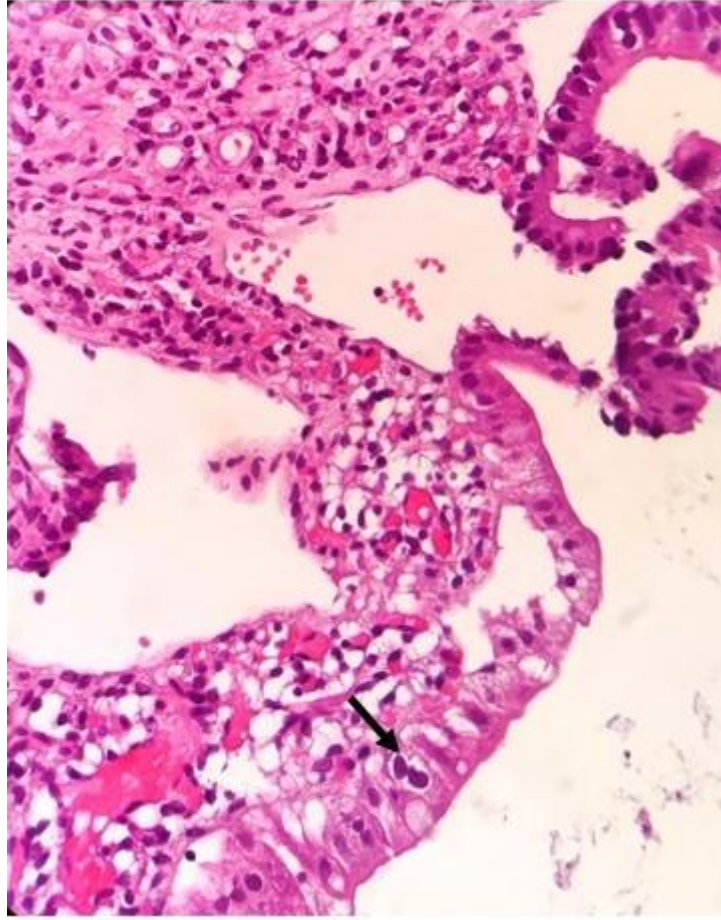
İnflamatuvar bağırsak hastalarında malnütrisyon, uygulanan immünsüpresif tedaviler, konak savunma faktörlerinde fonksiyon bozukluğu sonucu latent CMV reaktif olabilir. İBH'de uygulanan tedavilere yanıt vermeyen hastalarda klinik tablonun kötüleşmesine sebep olan fırsatçı enfeksiyonların, özellikle de CMV'nin dışlanması önem taşımaktadır (29,30). İBH semptomları ile CMV kolit semptomları benzer olduğundan bu hastalarda CMV ilişkili kolit tanısının konması uygun tedavinin sağlanmasında çok önemlidir. Genel olarak hastalarda karın ağrısı, ishal, hematokezya gibi bulgular vardır. İlerleyen olgularda kanama, fulminan kolit, toksik megakolon ve perforasyon gibi komplikasyonlara yol açabilir (31). Bazı çalışmalara göre CMV reaktivasyonu İBH seyrini olumsuz etkilerken, bazı çalışmalarda ise CMV'nin gastrointestinal kanaldaki enflamasyondan sorumlu olmadığı öne sürülmüştür (32). Bu hasta grubunda CMV prevalansı, yapılan çalışmalarda seçilen hasta grubu ve CMV enfeksiyon tanısı için farklı yöntemlerin kullanılması nedeniyle belirsizdir. Ancak Crohn ile karşılaştırıldığında ÜK hastalarında daha sık olduğu görülmüştür (1,33). Endoskopik olarak ÜK alevlenmesiyle CMV kolitini ayırt etmek zor olsa da CMV ile enfekte ÜK'li hastalarda irregüler ülserlere ve geniş mukozal defektlere sadece ÜK olan hastalara göre daha sık rastlandığı bildirilmiştir (34).

Tanı

Tanı öykü ve fizik muayene bulgularıyla beraber laboratuvar, endoskopik ve histopatolojik bulguların birlikte değerlendirilmesiyle konur.

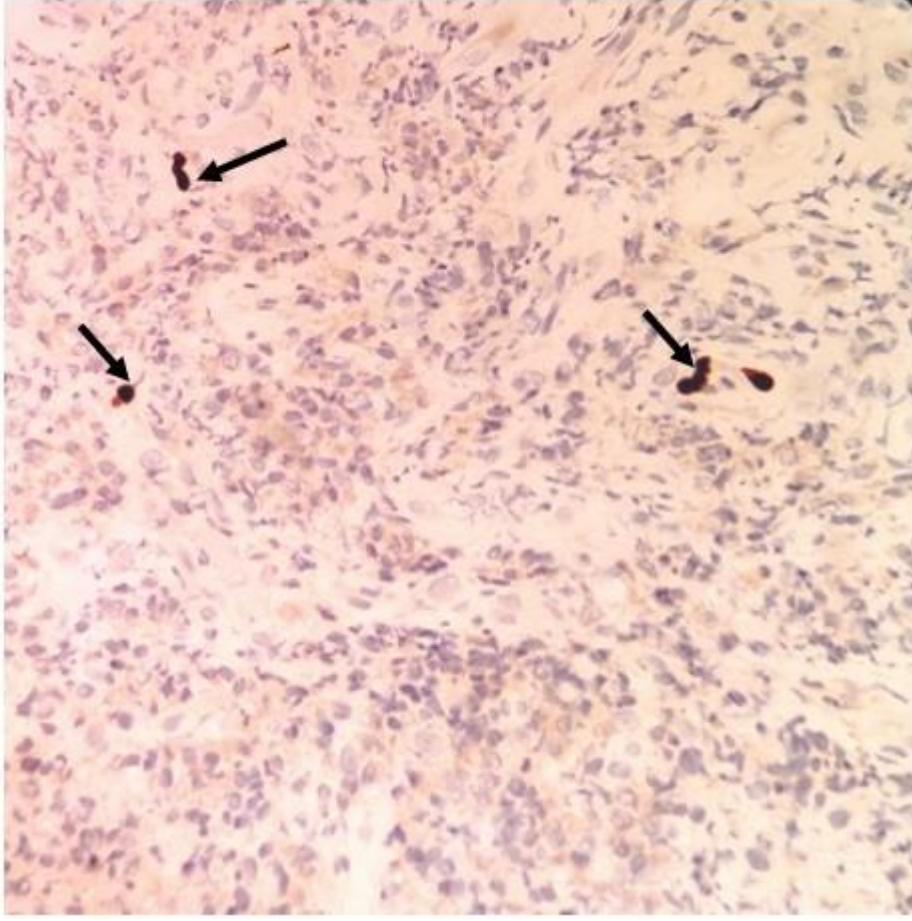
Histopatolojik İnceleme

Doku invazyonuyla giden CMV enfeksiyonlarında histopatolojik olarak enflamasyon ve ülserasyon görülür. Dokuda yapılan hematoksilen-eozin boyası ile virüs taşıyan hücrelerin histopatolojik olarak tanımlanması ve/veya immünohistokimya yöntemi ile CMV antijenlerinin saptanması CMV enfeksiyonu tanısı için altın standart kabul edilmektedir (10). Enfekte hücrelerdeki viral sitopatik etki, baykuş gözü görünümü intranükleer inklüzyonlar ile karakterizedir (Şekil 2). Nükleer inklüzyon, sınırı belirgin bir kromatin ve bu kromatinin etrafını çevreleyen açık alan gözlenir, bu nükleer membrana kadar uzanır.

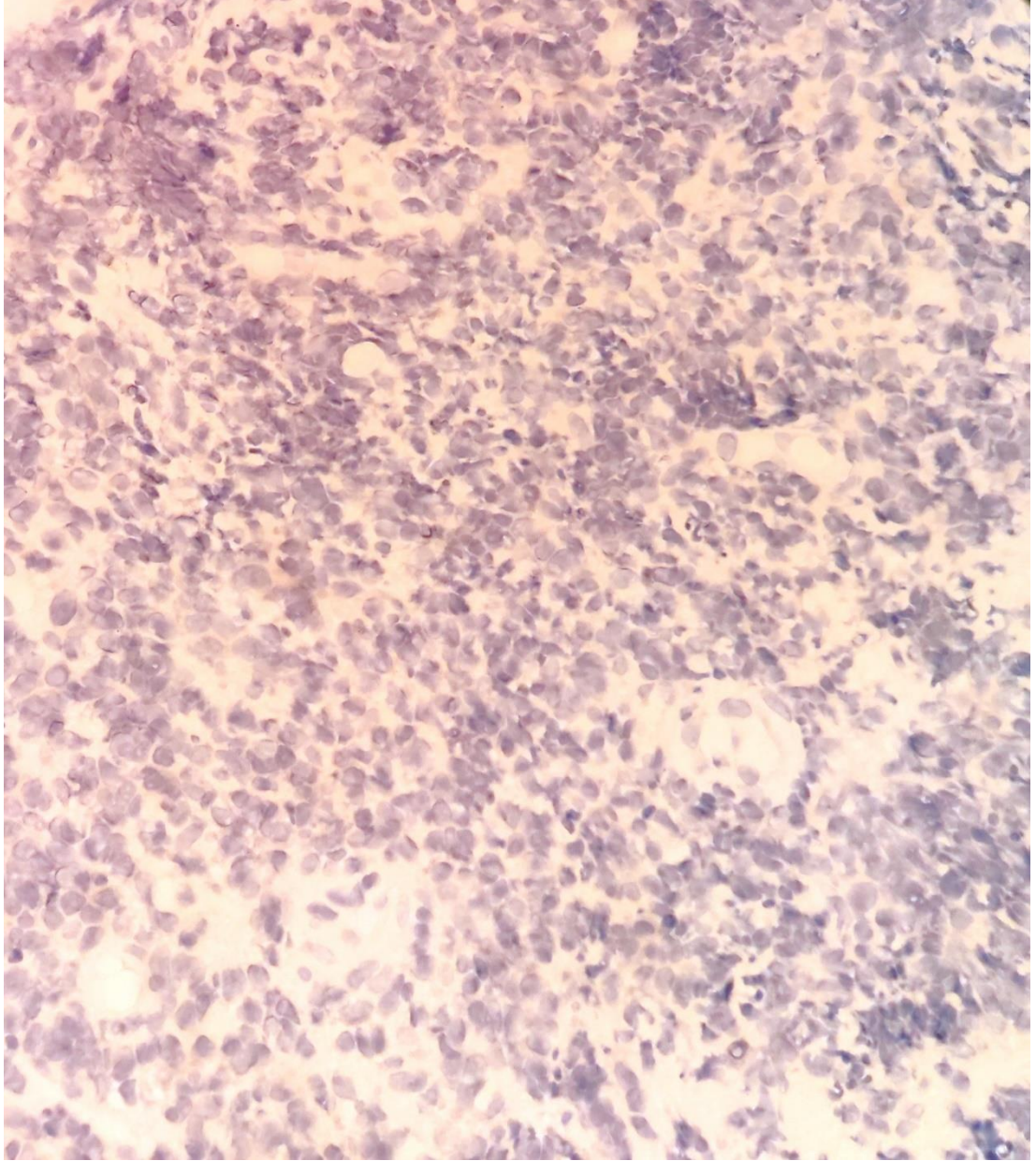


Şekil 2: Mikroskopik olarak iri bazofilik nükleuslu, geniş sitoplazmalı morfolojide hücreler belirgin nükleer genişleme ve binükleasyon içeren CMV sitopatik etkisiyle uyumlu olabilecek kolona ait yüzey epitel hücreleri (Hematoksilen-Eozin x200) (Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilimdalı)

Hematoksilen-Eozin boyası ile inceleme yönteminin özgüllüğü yüksek ancak duyarlılığı düşüktür ve değerlendirmesi subjektif olduğundan deneyimli bir patolog gerektirir. İHK, CMV tespitinde HE boyamadan daha duyarlıdır ve yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 3 ve 4). Histopatolojik incelemelerde CMV'ye özgü sitolojik değişikliklerin CMV tanısını kesin sağladığı kabul edilmekle birlikte PZR gibi moleküler yöntemlere göre duyarlılığı düşüktür (35). Histopatolojik tanının en önemli avantajı aktif hastalık ile ilişkili olmasıdır.



Şekil 3: İmmunohistokimyasal yöntemde CMV için pozitiflik gösteren CMV ile enfekte hücreler (x200) (Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilimdalı)



Şekil 4: Kolona ait mukozal dokuda immunohistokimyasal yöntemde CMV negatifliği (x200) (Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilimdalı)

Serolojik Testler

Hasta serumunda CMV'ye özgü IgM ve IgG antikorlarının saptanması için kullanılan testlerdir. CMV IgG pozitifliği herhangi bir zamanda geçirilmiş olan enfeksiyona işaret eder. CMV IgM pozitifliği ise geçirilmekte olan ya da

yeni geçirilmiş enfeksiyonu gösterir. Ancak sekonder CMV enfeksiyonu sırasında da IgM saptanabilir veya primer enfeksiyondan sonra pozitiflik uzun süre devam edebilir. Ayrıca CMV antikorlarının, EBV gibi virüslerin neden olduğu enfeksiyonlar sırasında poliklonal aktivasyona bağlı saptanabileceği akılda tutulmalıdır.

Primer enfeksiyon sırasında immün kompetan kişilerde CMV IgM pozitifliğine ek olarak 2-4 hafta ara ile alınan serum örneklerinde CMV IgG titresinde en az 4 kat artış saptanması akut enfeksiyonda tanıya yardımcıdır.

Serolojik testlerde avidite yöntemi de kullanılabilir. Avidite testi IgG antikorlarının antijene bağlanma gücünü ölçen bir testtir. Primer enfeksiyon sırasında antikorların spesifik antijene bağlanma gücü azdır ve düşük aviditeli antikorlar bulunmaktadır. Enfeksiyonun ilerleyen zamanlarında, primer enfeksiyondan genellikle 3-6 ay sonra IgG antikorlarının bağlanma gücü artar. Dolayısıyla yüksek avidite saptanması enfeksiyonun 3-6 ay önce geçirildiğinin göstergesidir.

Serolojik testlerin en önemli kullanım alanı gebelerde, solid organ veya kök hücre naklinden önce alıcının immün durumunu belirlemektir. Seronegatif kişiler CMV enfeksiyonuna duyarlıdır, seropozitif kişiler de reaktivasyon açısından risk altındadır.

Antijenemi Testi

Periferik kandaki polimorfonükleer lökositler içerisinde, floresanla işaretli monoklonal antikorlar kullanarak CMV'nin matriks proteini olan pp65 antijenini saptamaya yönelik immünfloresan bir yöntemdir. Hastanın periferik kanındaki lökositler sitosantrifüj yardımıyla lam üzerinde tek tabaka halinde yayılır ve immün boyama yapılır. Preparatlar floresan mikroskopta incelenir. Enfekte lökositlerin çekirdeklerinde yeşil renkte floresans görülmesi pozitif sonuca işaret eder. Pozitif hücrelerin sayısının toplam lökosit sayısına oranlanmasıyla semikantitatif sonuç verilir. Bu yöntemle çalışıldığında alınan pozitif sonuçlar aktif CMV enfeksiyonu ile uyumludur (36). Duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek hızlı sonuç veren bir testtir. Bu yöntemde hasta örnekleri

alındıktan sonra en geç 6 saat içinde çalışılması gerekir. Örnek sayısı çok olduğunda zaman alıcı ve zahmetlidir. Ayrıca, lökopenisi olan hastalarda yanlış negatif sonuç alınabilir.

Viral Kültür

Geleneksel bir yöntem olan hücre kültürü CMV tanısında altın standarttır (37). Bu yöntemde klinik örnekler, insan fibroblast hücrelerine inoküle edildikten sonra yaklaşık dört hafta inkübe edilerek sitopatik etki saptanmak üzere izlenir. CMV hücre kültüründe yavaş bir gelişim paterni gösterdiği için bu yöntem tanıda kullanışlı değildir (38). Yapılan çalışmalarda CMV koliti tanısında duyarlılık %45 - %78 iken özgüllük %89 - %100 olarak bildirilmiştir (1).

Hücre kültür yöntemlerinden biri olan Shell vial yöntemi, klinik örneklerde CMV'nin saptanması için 48-72 saat gibi bir sürede hızlı sonuç almak amacıyla kullanılır. Bu teknik ile viral sitopatik etkiden önce CMV replikasyonunun erken aşamasında sentezlenen antijenler saptanır. 1-2 günlük kısa bir inkübasyonun ardından üretilmiş olan antijenler floresan işaretli monoklonal antikolar ile tespit edilmektedir (39). CMV tanısında hücre kültürlerinin kullanımı, kültür bazlı olmayan saptama yöntemlerinin kullanım kolaylığı nedeniyle azalmıştır.

Moleküler Yöntemler

Son yıllarda moleküler testlerdeki gelişmelerle birlikte PZR yöntemi enfeksiyonların tanı ve takibinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. PZR testleri kalitatif veya kantitatif sonuç verebilir. CMV tespitinde de PZR yöntemi zamanla diğer tanı yöntemlerinin yerini almıştır. PZR ile klinik örneklerde CMV'ye ait DNA'nın veya mRNA dizilerinin (ters transkriptaz-RT PZR) çoğaltılarak saptanması amaçlanır. Bu yöntemde genellikle iyi korunmuş olan gen bölgeleri hedef alınır. CMV'de bu bölgeler erken ve geç antijen genleridir. PZR plazma, serum, biyopsi materyali, idrar, beyin omurilik sıvısı,

bronkoalveoler lavaj sıvısı, amniyon sıvısı ve oküler sıvılar gibi örneklerde çalışılabilmektedir. CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı diğer yöntemlerden daha yüksektir ve hastalığın erken dönemlerinde virüs saptanabilir (11).

Sitomegalovirüs enfeksiyonu tanısında PZR yönteminin dezavantajı aktif hastalık ile latent enfeksiyon ayırımının net olmamasıdır. Ancak CMV viremisi, CMV hastalığını erken dönemde gösteren bir laboratuvar bulgusu olarak kabul edilmektedir. Klinik semptomlar başlamadan önce CMV kanda tespit edilebilir. CMV hastalığını öngörmeye ve tanı koymada viral yük miktarı önem taşımaktadır. Birçok çalışma CMV viral yükü ile CMV hastalığı arasında korelasyon saptamıştır. Bu sebeple immün sistemi baskılanmış hastaların izlemi ve antiviral tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır. Enfeksiyonun erken dönemde saptanarak preemtif tedavi ile viral yükün azaltılması CMV hastalığı gelişme riskini önlemektedir. Bu sebeple immün düşkün hastalarda ve transplantasyon alıcılarında kanda CMV viral yük miktarı takip edilmelidir. Hastaların takibi sırasında viral yükteki artış hastalığın aktivitesi ve tedavi başarısızlığıyla ilişkilidir (40).

Sitomegalovirüs koliti tanısında gerçek zamanlı PZR yöntemi kanda, bağırsak dokusunda (biyopsi örneğinde) ya da gaitada CMV DNA tespiti amacıyla kullanılabilir.

Sitomegalovirüs Koliti Tanısı

Sitomegalovirüs koliti olan hastalar diyare, karın ağrısı, ateş, rektal kanama ve kilo kaybı gibi spesifik olmayan semptomlarla başvururlar. Bu nedenle, kesin tanı için klinik şüphayla birlikte laboratuvar incelemeleri esastır. Tanıda mümkünse kolonoskopi yapılması ve biyopsiyle alınan doku örneğinin HE ve/veya İHK yöntemiyle incelenmesi, ayrıca doku ve/veya kanda CMV DNA araştırılması önerilmektedir.

İnflamatuvar bağırsak hastalarında hastalığın aktif olduğu zamanlarda CMV kolitinin tanısı güçtür. CMV koliti olgularında kolonoskopi ile incelemede; yama tarzında eritem, eksuda, mikroerozyonlar, diffüz ödematöz mukoza, multipl mukozal erozyonlar, derin ülserler ve psödopolipler izlenebilir. Bir

çalışmada zimba deliği ülserasyon ile longitudinal (uzunlamasına) ülserasyonun duyarlılığı ve özgüllüğü % 70'in üzerinde bulunmuştur (34). Lezyonların altta yatan hastalık ya da CMV kaynaklı olup olmadığının belirlenmesi için biyopsi alınarak PZR ya da İHK ile tanı doğrulanmalıdır.

Tanıda altın standart yöntem histopatolojidir (37). İHK yöntemiyle CMV antijenleri doku örneklerinde tespit edilir. Bu aynı zamanda aktif hastalığa işaret eder. İHK yönteminin özgüllüğü yüksek fakat duyarlılığı düşüktür. Testin sonuçlanması zaman alıcıdır ve değerlendirmesi zahmetli bir yöntemdir.

Doku biyopsi örnekleri ve kanda CMV DNA tespiti invaziv hastalık tanısında kullanılmaktadır. Yöntemin HE ve İHK yöntemine göre özgüllüğü düşük olsa da duyarlılığı yüksektir (11). CMV koliti şüphesinde kolonoskopiyle yapılan makroskobik incelemede özellikle ülser kenarı ve tabanından alınan örneklerde çalışılan PZR testinin duyarlılık ve özgüllüğünün daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (41). Kan örneklerinde CMV DNA saptanması ise tanıda yararlı olmakla birlikte gastrointestinal sistem tutulumu olduğunu kanıtlamaz. Bir çalışmada CMV koliti tanısında kanda PZR duyarlılığı %65-100, özgüllüğü %40-92; kolondan alınan doku örneğinde duyarlılığı %92-96, özgüllüğü %93-98,7 olarak bildirilmiştir (42). Birçok çalışmada CMV viral yükü ile enfeksiyonun şiddeti arasında korelasyon saptanmıştır. Ancak CMV kolit tanısında PZR'ın standardizasyonu ve eşik değerinin (cut-off değerinin) olmaması bu yöntemin kısıtlılığıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2019 - Mart 2022 tarihleri arasında PZR yöntemiyle CMV DNA varlığı araştırılan gastrointestinal sistem doku biyopsi örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. Erişkin (18 yaş ve üzeri) hastalardan alınan ve eş zamanlı olarak Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda CMV varlığının saptanması için İHK yöntemiyle değerlendirilen 96 bağırsak doku örneği çalışmaya dahil edildi.

Dokuda saptanan CMV DNA'nın tanısal değerini belirlemek amacıyla, aşağıda belirtilen veriler hastane bilgi yönetim sisteminden (HBYS) (MİA-MED otomasyon bilgi sistemi) ve hasta dosyalarından elde edildi.

- 1) Hastaların cinsiyet ve yaşı
- 2) Hastaların tanısı ve komorbiditeleri
- 3) Kolonoskopi nedeni (klinik başvuru şikayeti: karın ağrısı, ishal, kanlı ishal, kontrol vb.)
- 4) Kolonoskopik değerlendirme sonucu
- 5) Ülseratif kolit hastalarında kolonoskopi skoruna göre hastalık aktivitesi
- 6) Daha önce CMV reaktivasyon öyküsü
- 7) Uygulanan tedavi öyküsü (antiviral, immünsüpresif vb.)
- 8) Hastaların CMV serolojisi
- 9) İmmünohistokimya ve hematoksilen-eozin boyası sonucu
- 10) Dışkı örneklerinin direkt mikroskopik incelemesi
- 11) Bağırsak doku biyopsi örneklerinde CMV DNA viral yükü
- 12) Kanda CMV DNA viral yükü

Kolonoskopi

Kolonoskopik işlemler sedasyon analjezisi altında endoskopi ünitesinde uygulanır. Her hastanın kolon mukozası ve gerekirse ileal mukoza

ayrıntılı olarak değerlendirilir. Hiperemi, ödem gibi inflamasyon bulguları görülen mukozadan ve ülserli alanlardan biyopsiler alınır.

Sitomegalovirüs DNA'nın Saptanması

Doku Örneklerinde CMV DNA'nın Saptanması:

Kolonoskopi sırasında biyopsi ile alınan bağırsak doku örnekleri serum fizyolojik içeren steril kap içinde laboratuvara gelir. Hemen çalışılmayan örnekler 48-72 saate kadar +4°C'de, daha uzun süreler için ise -20°C'de bekletilir. Doku örneklerinin ağırlığını hesaplamak için öncelikle bir adet boş 1,5 ml hacimli mikrosantrifüj tüpü tartılır ve ağırlığı mg cinsinden kaydedilir. Otomatik pipetle steril bir pipet ucu yardımıyla negatif basınç sağlanarak doku yakalanır. Pipetin pistonu bırakılmadan basılı halde tutulmaya devam edilerek doku taşınıp boş olarak ağırlığı belirlenen mikrosantrifüj tüpü içine sterilitesi bozulmadan bırakılır. Bu sırada taşıma sıvısının aktarılmamasına özen gösterilir ve tüpte sıvı varsa steril bir pipet ucu ile mümkün olduğunca çekilir. Doku içinde iken mikrosantrifüj tüpü tekrar tartılır. Boş tüpün darası çıkarılarak dokunun ağırlığı hesaplanır ve kaydedilir. Literatürdeki çalışmalar referans alınarak dokunun üzerine lizis buffer eklenir ve 1000 mikrolitreye tamamlanır (43,44). Bir gece hafif çalkalama ayarıyla 45°C ısı ayarlı su banyosunda veya kuru ısı bloğunda bekletilir. Ekstraksiyon ve amplifikasyon işlemlerinden önce tüp içindeki dokunun tamamen erimiş olduğu kontrol edilir. Şayet erimedi ise aralıklı vorteks yapılarak sekiz saate kadar bekleme süresi uzatılır. Daha sonraki basamaklar plazma örnekleriyle benzer şekilde yürütülür. Amplifikasyon işlemi sonunda elde edilen viral kopya miktarı, dokunun ağırlığına bölünerek mg başına denk düşen kopya sayısı belirlenir. Hasta sonuçları kalitatif olarak raporlanır.

Kan Örneklerinde CMV DNA'nın Saptanması:

Sitomegalovirüs DNA PZR testi için nükleik asit ekstraksiyonu Abbott m2000sp cihazında, amplifikasyon işlemi ise Abbott m2000rt cihazında (Abbott, ABD) tam otomatize olarak üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmektedir. Kısaca; laboratuvara gelen kan örneklerinden elde edilen plazmadan 800 mikrolitre reaksiyon tüplerine aktarılır. Abbott m2000sp cihazında nükleik asitlerin ekstraksiyonu ve saflaştırma işlemi meydana gelir ve elde edilen nükleik asitler 96 kuyulu bir pleyte aktarılır. Amplifikasyona hazır nükleik asitler reaksiyon için gerekli solüsyonlarla birlikte Abbott m2000rt cihazına yerleştirilir. Amplifikasyon reaksiyonu sırasında CMV genomunun UL34 ve UL80.5 genlerinin içinde yer alan DNA bölgesi hedeflenir ve DNA polimeraz enzimiyle çoğaltılır. Her bir PZR amplifikasyon döngüsü sırasında, floresan prob, varsa amplifiye edilmiş hedef DNA'ya bağlanır. Hedefteki tamamlayıcı diziye bağlanan prob, floresan sinyali yayılmasına neden olur. Floresan sinyali gerçek zamanlı olarak her PZR döngüsünde ölçülerek CMV DNA'nın kantitasyonuna olanak sağlar. Testte bulunan standartlar yardımıyla ölçülen DNA miktarı kopya/ml ve IU/mL olarak raporlanır.

İmmünohistokimya Boyama

Sitomegalovirüs tutulumu açısından şüpheli mukozal yüzeylerden alınan doku örneklerinden yapılan kesitler Tıbbi Patoloji Laboratuvarı'nda incelenmektedir. Doku örnekleri HE boyası incelemesiyle enflamasyonun niteliği (kronik, aktif) ve viral inklüzyon cisimciklerinin varlığı açısından değerlendirilir. İHK yöntemiyle yapılan incelemede anti-CMV monoklonal antikoları kullanılarak enfekte hücrelerde CMV antijenik proteinlerinin varlığı araştırılır. Endotel hücrelerinin, epitel hücrelerinin ve stromal hücrelerin nükleer veya sitoplazmik boyanması pozitif olarak yorumlanır. Tek bir çekirdekte tipik boyanma görülmesi pozitif olarak kabul edilir.

Etik Kurul Onayı

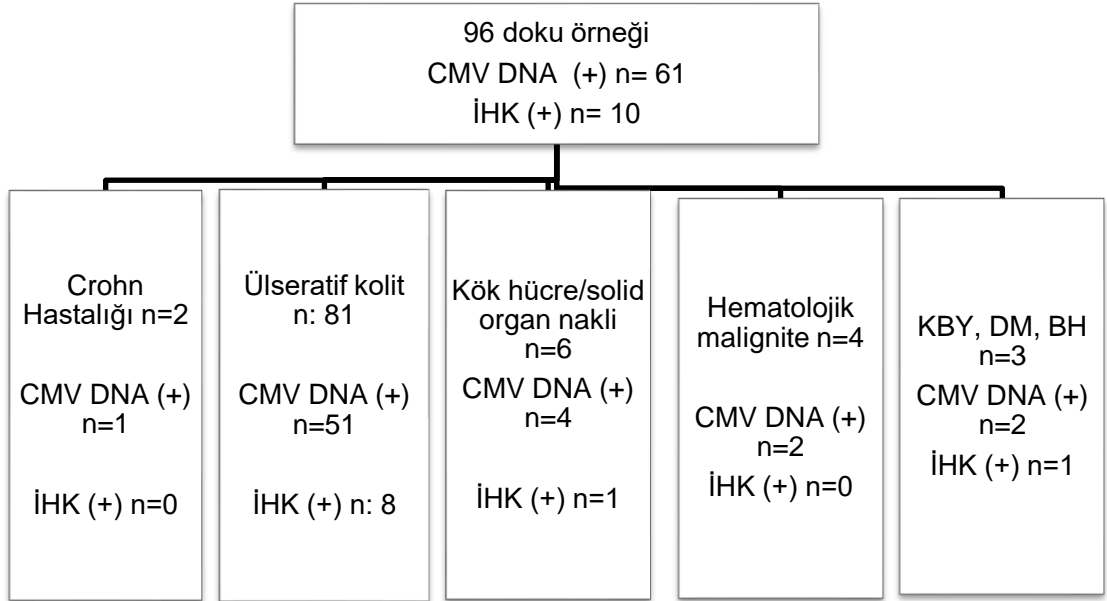
Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 30 Mart 2022 tarih, 2022-7/48 nolu karar ile onaylanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Verilerin normal dağılım göstermemesinden dolayı gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ve Mann Whitney U testi ile yapılmış ve betimleyici istatistikler medyan (min-max) olarak verilmiştir. Kategorik verilerin istatistiksel karşılaştırmaları Pearson ki-kare, Fisher's exact test ve Fisher-Freeman-Halton testi ile yapılmıştır. Kategorik verilerin betimleyici istatistikleri frekans ve yüzde olarak verilmiştir. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman sıra korelasyon katsayısı ile incelenmiştir. ROC analizi ile uygun olan cut off değerleri araştırılmış ve kesim (cut off) değerinin belirlenmesinde Youden J indeksi kullanılmıştır. Verilerin analizi SPSS v25 ve MEDCALC 19.5.6 paket programı ile yapılmıştır.

BULGULAR

Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2019-Mart 2022 tarihleri arasında CMV koliti şüphesi olan hastalardan gönderilen ve kriterleri karşılayan 96 gastrointestinal mukoza biyopsi örneği çalışmaya dahil edildi. Örneklerin 81'i ülseratif kolit, ikisi Crohn, altısı kök hücre veya solid organ nakli, dördü hematolojik malignite, biri kronik böbrek yetmezliği, biri Behçet, biri diyabetes mellitus tanılı hastalara aitti. Hastaların doku örneklerinin 61'inde CMV DNA saptanmıştı, 10'unda CMV İHK incelemesi pozitif idi. Şekil 5'te hastalar tanılarına göre gruplanarak doku örneklerinde CMV DNA PZR ve CMV İHK pozitifliği dağılımı sunulmuştur.



Şekil 5: Hastaların tanıları ile CMV DNA ve İHK pozitifliğinin dağılımı. (KBY: Kronik böbrek yetmezliği, DM: Diyabetes mellitus, BH: Behçet Hastalığı, İHK: İmmünohistokimya)

Ülseratif kolit tanılı hastalar dışındaki hastaların sayısı kısıtlı olduğundan istatistiksel analizler yalnızca bu grup üzerinden

gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar analizleri incelendiğinde tüm hastalar CMV açısından seropozitif idi. Dışkı örneklerinin direkt mikroskopik incelemesinde parazit enfeksiyonunu düşündürecek kistik lezyonlara rastlanmamıştı.

Sitomegalovirüs koliti şüphesiyle kolonoskopi yapılan 81 yetişkin ülseratif kolit hastasının tümünde biyopsi kolondan özellikle inflamasyon ve ülser görülen mukoza alanlarından alınmıştır. Kolon biyopsi örneklerinde CMV viral yükü medyan değeri 20 kopya/mg (aralık: 0 - 160.159) olup, 51'inde (%63) CMV DNA pozitifliği tespit edilmiştir. Eş zamanlı olarak 43 hastanın plazma örneğinde CMV DNA araştırılmış olup 25'inde (%58,5) CMV DNA saptanmış ve medyan değeri 20 kopya/ml (aralık: 0 - 1.937) olarak bulunmuştur. Örneklerin HE boyama ve İHK yöntemleriyle histopatolojik inceleme sonuçları değerlendirildiğinde, HE boyama ile yalnızca bir hastada CMV varlığını gösteren intranükleer yerleşimli inklüzyon cisimleri görülmüştür. İHK incelemesinde ise 81 hastanın 8'inde (%9,8) pozitiflik saptanmıştır.

Hastaların cinsiyet dağılımına bakıldığında 32'sinin kadın (%39,5), 49'unun erkek (%60,5) olduğu görülmüştür. Dokuda saptanan CMV DNA viral yük medyan değeri kadınlarda 20 kopya/mg (aralık: 0 - 27.000), erkeklerde 20 kopya/mg (aralık: 0 - 160.159) olarak saptanmıştır. Yaş dağılımları incelendiğinde medyan 45 (aralık: 20 - 79) olarak saptanmış olup; kadınlar (medyan 39, aralık: 22 - 68) ve erkekler (medyan 45, aralık: 20 - 79) arasında fark bulunmamıştır.

Dokuda CMV DNA varlığı ile hastaların klinik ve laboratuvar bulguları arasındaki ilişki değerlendirilmiştir (Tablo 1). Cinsiyet, ÜK aktivitesi, başvuru yakınması, immünsüpresif ajanla tedavi alma durumu, histopatolojik tanı, endoskopide ülser varlığı özellikleri ile dokuda CMV DNA pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Plazma CMV DNA pozitifliği ($p<0,001$) ve İHK pozitifliği ($p=0,023$) ile dokuda CMV DNA pozitifliği arasında ise anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır.

Tablo 1: Doku CMV DNA pozitifliği ile klinik ve diğer laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

		Dokuda CMV DNA				p
		Negatif		Pozitif		
		n	(%)	n	(%)	
Cinsiyet	Erkek	15	30,6	34	69,4	0,138
	Kadın	15	46,9	17	53,1	
İHK	Negatif	30	41,1	43	58,9	0,023
	Pozitif	0	0,0	8	100,0	
Histopatoloji	Kronik İnflamasyon	4	80,0	1	20,0	0,060
	Kronik Aktif İnflamasyon	26	34,2	50	68,5	
Plazma CMV DNA	Negatif	12	66,7	6	33,3	<0,001
	Pozitif	3	12,0	22	88,0	
Yakınma	Sulu Diyare	20	44,4	25	55,6	0,254
	Kanlı Diyare	9	27,3	24	72,7	
	Karın Ağrısı	1	33,3	2	66,7	
ÜK aktivitesi	Hafif	3	60,0	2	40,0	0,532
	Orta	7	35,0	13	65,0	
	Şiddetli	20	35,7	36	64,3	
İmmünsüpresif tedavi	Almıyor	10	50,0	10	50,0	0,167
	Alıyor	20	32,8	41	67,2	
CMV öyküsü	Yok	24	43,6	31	56,4	0,074
	Var	6	23,0	20	77,0	
Ülser	Yok	4	33,3	8	66,7	1,00
	Var	26	37,7	43	62,3	

(İHK: İmmünohistokimya, ÜK: Ülseratif kolit)

Hastaların demografik özellikleri ile dokuda bulunan viral yük miktarı arasındaki ilişkiler de incelenmiştir. Cinsiyet ile doku CMV DNA kopya sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0,533$) (Tablo 2). Yaş açısından

bakıldığında doku CMV DNA kopya sayısının yaşla arttığı, aynı yönde anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ($r=0,401$; $p<0,001$).

Tablo 2: Cinsiyet ile doku CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Doku CMV DNA (kopya/mg)			
Cinsiyet	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	<i>p</i>
Kadın	32	20	0	27.000	0,533
Erkek	49	20	0	160.159	

Doku örneklerine benzer şekilde, plazma CMV DNA kopya sayısı ile cinsiyet arasındaki ilişki anlamlı bulunmamıştır ($p=0,567$) (Tablo 3). Bununla birlikte plazma viral yükü ile yaş arasında aynı yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($r=0,591$; $p<0,001$)

Tablo 3: Cinsiyet ile plazma CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Plazma CMV DNA (kopya/mL)			
Cinsiyet	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	<i>p</i>
Kadın	19	20	0	1.937	0,567
Erkek	24	49	0	1.578	

Dokuda CMV DNA pozitifliği ile plazmada bulunan CMV DNA viral kopya sayısı arasında da anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($r=0,741$; $p<0,001$) (Tablo 4). Biyopsilerinde CMV DNA saptanan hastaların plazma CMV DNA viral yükü daha fazladır.

Tablo 4: Doku CMV DNA pozitifliğiyle plazma CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Plazma CMV DNA (kopya/mL)			
Doku CMV DNA	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	<i>P</i>
Pozitif	28	86,5	0	1.937	<0,001
Negatif	15	0	0	105	

İmmünohistokimya incelenmesinde pozitiflik saptanan hastalarda doku CMV DNA kopya sayısı daha yüksek olup istatistiksel açıdan aynı yönde anlamlı ilişki saptanmıştır ($p<0,001$) (Tablo 5). Plazma CMV DNA PZR testi yapılan 43 hastanın altısında İHK pozitifdir ve bu hastalarda da plazma CMV viral yük miktarı daha yüksektir ($p=0,006$) (Tablo 6).

Tablo 5: İmmünohistokimya incelemesi ile doku CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Doku CMV DNA (kopya/mg)			
İHK	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Pozitif	8	20	0	160.159	<0,001
Negatif	73	20	0	16.182	

(İHK: İmmünohistokimya)

Tablo 6: İmmünohistokimya incelemesi ile plazma CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Plazma CMV DNA (kopya/mL)			
İHK	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Pozitif	6	922	0	1.937	0,006
Negatif	37	20	0	578	

(İHK: İmmünohistokimya)

Doku örneklerinin histopatolojik incelemesinde kronik ve kronik aktif inflamasyon görülen iki grup arasında kronik aktif inflamasyon görülenlerde doku CMV DNA kopya sayısı daha yüksek olup istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0,040$) (Tablo 7).

Tablo 7: Histopatolojik incelede inflamasyon görülmesi ile doku CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Doku CMV DNA (kopya/mg)			
Histopatoloji	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Kronik inflamasyon	5	0	0	20	0,040
Kronik aktif inflamasyon	76	20	0	160.159	

Hastaların kolonoskopi yapıma nedenleri incelendiğinde, 45'inde (%55,6) diyare ve karın ağrısı, 33'ünde (%40,7) kanlı diyare ve karın ağrısı, 3'ünde ise yalnızca karın ağrısı (%3,7) şikayeti olduğu görülmüştür. Diyare ve kanlı diyare şikayeti olanlar karşılaştırıldığında doku CMV DNA kopya sayısı farklı bulunmamıştır (p=0,336). (Sadece karın ağrısı yakınması üç hastada olduğundan analize dahil edilmemiştir.)

Hastalar, kolonoskopik inceleme skoruna göre hafif şiddetli (%6,2; n=5), orta şiddetli (%24,7; n=20) ve şiddetli (%69,1; n=56) ülseratif kolit aktivitesi olanlar şeklinde sınıflandırılmıştır. Hastaların çoğunda şiddetli ÜK aktivitesi olduğu görülmüş ancak doku CMV DNA kopya sayısı ile ÜK aktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (p=0,261) (Tablo 8).

Tablo 8: Ülseratif kolit aktivitesi ile doku CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

		Doku CMV DNA (kopya/mg)			
ÜK aktivitesi	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Hafif	5	0	0	20	0,261
Orta	20	45	0	145.291	
Şiddetli	56	20	0	160.159	

(ÜK: Ülseratif kolit)

Ülseratif kolit aktivitesi ile plazma CMV DNA kopya sayısı değerlendirilirken hafif ve orta şiddette hastalık aktivitesi olanlar tek grup olarak ele alınmıştır. Tablo 9’da sunulduğu gibi ÜK aktivitesi ile plazma CMV DNA viral kopya sayısı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,738$).

Tablo 9: Ülseratif kolit aktivitesi ile plazma CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

Plazma CMV DNA (kopya/mL)					
ÜK aktivitesi	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Hafif veya orta	9	20	0	136	0,738
Şiddetli	34	20	0	1.937	

(ÜK: Ülseratif kolit)

Endoskopik incelemede, tüm hastalarda hiperemi ve ödem gibi inflamasyon bulguları tespit edilmiştir. Buna ek olarak hastaların 69’unda (%85,2) mukozada ülser varlığı raporlanmıştır. Bu 69 hastanın 36’sında ülseler yapısına göre; aftöz, eksudalı ve derin karakterli şeklinde sınıflandırılmıştır. Ülser varlığı ve ülser karakteri ile dokudaki viral yük arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 10 ve 11).

Tablo 10: Kolonoskopide ülser varlığı ile doku CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

Doku CMV DNA (kopya/mg)					
Ülser	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Var	69	20	0	160.159	0,810
Yok	12	20	0	27.000	

Tablo 11: Ülser karakteri ile doku CMV DNA kopya sayısı arasındaki ilişki

Doku CMV DNA (kopya/mg)					
Ülser karakteri	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Aftöz	7	0	0	111	0,192
Eksudalı	18	35,5	0	1.347	
Derin	11	20	0	24.226	

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalarda biyopsi örnekleri mukozada görülen inflamasyon alanlarından alınmıştır. Hastaların 64 tanesinin tek biyopsi örneğine, 17'sinin iki biyopsi örneğine CMV DNA PZR testi uygulanmıştır. Bu 17 hastadan 3'ünün biyopsi örneklerinde farklı sonuçlar elde edilmiş ve Tablo 12'de sunulmuştur.

Tablo 12: Birden fazla doku örneği çalışılan ve CMV DNA sonucu farklı bulunan hastaların sonuçları

	Doku CMV DNA (kopya/mg)	
	Örnek 1	Örnek 2
Hasta 1	477	20
Hasta 2	16.182	Saptanmadı
Hasta 3	358	2.825

Hastalar daha önce geçirilen CMV reaktivasyon öyküsü açısından değerlendirilmiştir; 26'sında CMV öyküsü varken, 55'inde CMV reaktivasyonu olmamıştır. CMV reaktivasyon öyküsü ile doku CMV DNA pozitifliği arasında bir ilişki bulunmazken; CMV DNA kopya sayısı CMV reaktivasyonu geçirmiş olanlarda istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,014$) (Tablo 13).

Tablo 13: Sitomegalovirüs reaktivasyon öyküsü ile doku CMV DNA viral kopya sayısı arasındaki ilişki

Doku CMV DNA (kopya/mg)					
CMV öyküsü	Hasta sayısı	Medyan	Minimum	Maksimum	p
Var	26	77,5	0	160.159	0,014
Yok	55	20	0	27.000	

Ülseratif kolit için verilen tedavilere bakıldığında hastaların 43'ü mesalazin, 29'u azatioprin ve mesalazin, 3'ü azatioprin, mesalazin ve infliksimab, 1'i azatioprin, mesalazin ve adalimumab, 2'si mesalazin ve adalimumab ve 2'si infliksimab tedavisi aldığı saptanmıştır. İmmünsüpresif ilaç kullanımı ile doku CMV DNA pozitifliği ve viral yükü arasındaki ilişki değerlendirildiğinde steroid tedavisi alanlarda (n=34) anlamlı farklılık saptanmamıştır. Azatioprin kullanımının da CMV pozitifliği ve viral yüke etkisinin olmadığı saptanmıştır. Hem steroid hem azatioprin verilen 17 hastanın da CMV pozitifliği ve viral yükü ile tedavi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Roblin ve arkadaşları ÜK hastalarında CMV koliti tanısında dokuda CMV DNA'nın 250 kopya/mg olmasını öngörücü olarak bildirmiştir (29). Bu çalışma referans alınarak dokudaki CMV viral yükü 250 kopya/mg'ın altında olanlar ile 250 kopya/mg ve üstünde olan hastaların klinik ve laboratuvar bulguları karşılaştırılmıştır (Tablo 14). Dokuda bulunan CMV viral yük miktarı 250 kopya/mg altında olan hastalar ile 250 kopya/mg ve üstünde olan hastalarda plazma CMV DNA pozitifliğinin dağılışı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). İHK pozitif tüm hastaların dokusunda bulunan CMV DNA viral yükü ≥ 250 kopya/mg'dır ve İHK pozitifliği bu hastalarda anlamlı olarak daha yüksektir ($p<0,001$).

Tablo 14: Dokuda saptanan 250 kopya/mg değerinin deęişkenlerle iliřkisi

		CMV DNA <250 kopya/mg		CMV DNA ≥250 kopya/mg		<i>p</i>
		n	(%)	n	(%)	
İHK	Negatif	59	80,8	14	19,2	<0,001
	Pozitif	0	0,0	8	100,0	
Histopatoloji	Kronik	5	100,0	0	0,0	0,316
	Kronik Aktif	54	71,1	22	28,9	
Plazma DNA	CMV	Negatif	17	1		0,001
		Pozitif	11	14		
Yakınma	Sulu Diyare	33	73,3	12	26,7	0,341
	Kanlı Diyare	25	75,8	8	24,2	
	Sadece karın Ağrısı	1	33,3	2	66,7	
Cinsiyet	Erkek	37	75,5	12	24,5	0,504
	Kadın	22	68,8	10	31,3	
ÜK Aktivitesi	Hafif	5	100,0	0.	0,0	0,523
	Orta	14	70,0	6	30,0	
	Şiddetli	40	71,4	16	28,6	
İmmünespresif Tedavi	Almıyor	16	80,0	4	20,0	0,407
	Alıyor	43	70,5	18	29,5	
CMV Öyküsü	Yok	44	80,0	11	20,0	0,035
	Var	15	57,7	11	42,3	
Ülser	Yok	8	66,7	4	33,3	0,726
	Var	51	73,9	18	26,1	

(İHK: İmmünohistokimya. ÜK: Ülseratif kolit)

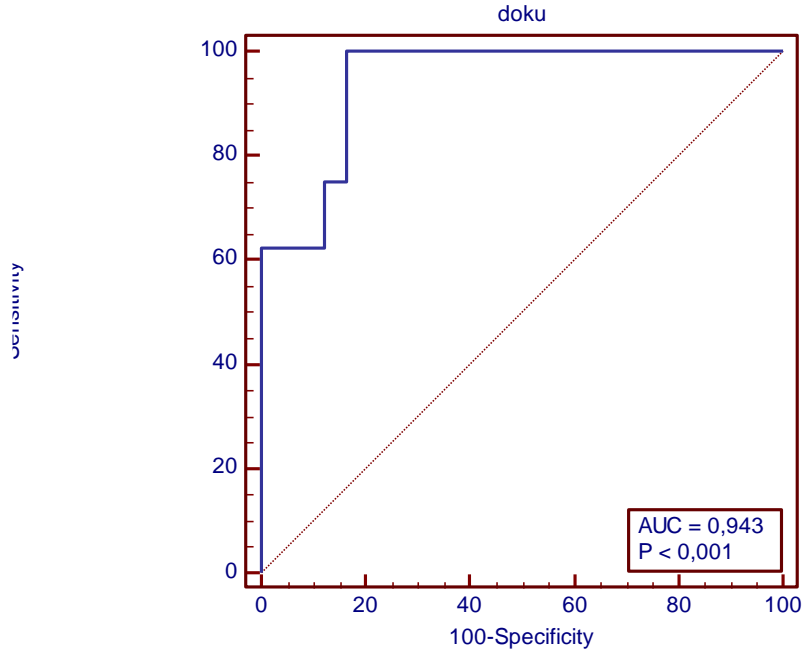
Sitomegalovirüs koliti tanısında altın standart kabul edilen yöntem olan İHK incelemesine göre plazmada CMV DNA tespitinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %48,64, pozitif prediktif değeri (PPD) %24, negatif prediktif değeri (NPD) %100 olarak bulunmuştur. Dokuda CMV DNA tespitinin duyarlılığı ise %100, özgüllüğü %41,9, PPD'si %15,68, NPD'si %90,12 olarak bulunmuştur (Tablo 15)

Tablo 15: Doku ve plazma CMV DNA PZR'nin duyarlılık ve özgüllükleri

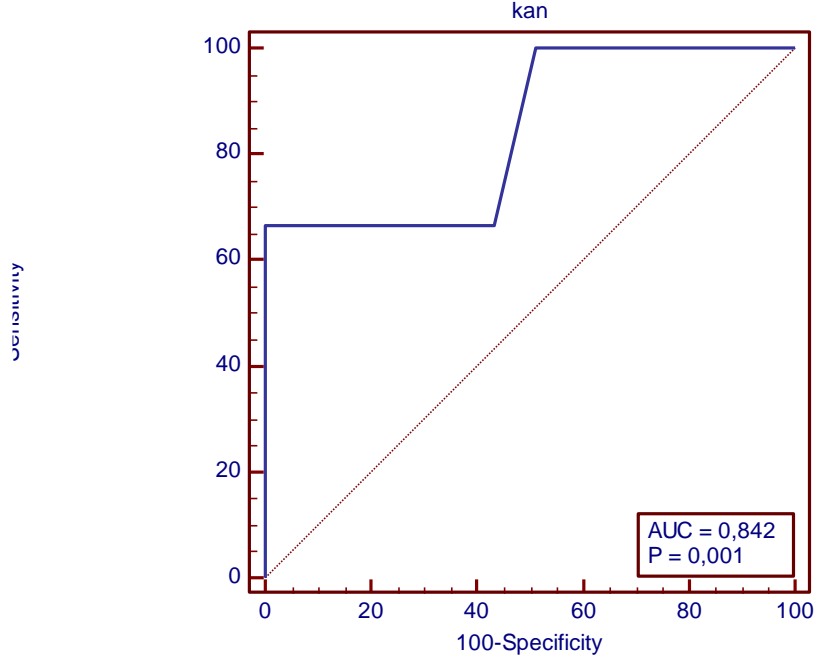
	Doku CMV DNA (+)	Plazma CMV DNA (+)
Duyarlılık	%100	%100
Özgüllük	%41,9	%48,64
PPD	%15,68	%24
NPD	%90,12	%100

(PPD: Pozitif prediktif değer, NPD: Negatif prediktif değer)

Plazma ve dokuda maksimum duyarlılık ve özgüllükle tanı koydurucu eşik değer kabul edilebilecek CMV DNA viral yükü ROC analizi ile belirlenmiştir. İHK altın standart kabul edildiğinde doku ve plazma için sırasıyla >392 kopya/mg ve >578 kopya/ml olarak saptanmıştır. Doku için 392 kopya/mg kriter alındığında CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %83,56 ve ROC analizi için eğri altında kalan alan (AUC) 0,943 (%95 GA 0,87 – 0,98) ve $p < 0,001$ olarak belirlenmiştir (Şekil 6). Plazma için 578 kopya/ml kriter alındığında plazma CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı %66,67, özgüllüğü %100 şeklinde ve ROC analizi için eğri altında kalan alan (AUC) 0,842 (%95 GA 0,70 – 0,93) ve $p = 0,001$ olarak bulunmuştur (Şekil 7).



Şekil 6: Doku CMV DNA PZR'nin İHK'ye göre ROC analizi



Şekil 7: Plazma CMV DNA PZR'nin İHK'ye göre ROC analizi

Doku CMV DNA ve plazma CMV DNA ROC eğrileri karşılaştırıldığında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,458$) (Tablo 16).

Tablo 16: Doku ve plazma ROC analiz sonuçlarının karşılaştırılması

	n	AUC (Std Hata)	p	Youden J indeks	Eşik değer	Duyarlılık	Özgüllük	ROC karşılaştırma p
Doku	81	0,943 (0,03)	<0,001	0,84	>392	100	83,56	0,458
Kan	43	0,842 (0,10)	0,001	0,67	>578	66,67	100	

TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda gelişen tedavi stratejileriyle kök hücre ve solid organ alıcıları, malignitesi olanlar, İBH ve HIV enfeksiyonu olanlar gerek primer hastalıkları gerekse uygulanan tedaviler nedeniyle immün sistemleri yetersiz olarak hayatlarına devam etmektedirler. Primer enfeksiyon sonrasında latent kalan CMV, immün yetmezliği olan bu hastalarda reaktif olarak farklı organ ve dokuları (pnömoni, miyokardit, kolit, hepatit, ensefalit ve retinit gibi) etkileyebilir (14,17,26,40).

Bağışıklığı sağlam kişilerde CMV koliti nadirdir (5). Bağışıklığın baskılanması CMV koliti için başlıca risk faktörüdür ve hastaların klinik seyrini olumsuz etkiler (10). Bu çalışmaya dahil edilen 96 örneğin neredeyse tümü immünsüpresif hastalara aitti. Hastaların tanılarına göre en büyük grubu ÜK hastaları (n=81) oluştururken, sonrasında nakil hastaları (n=6) ve hematolojik maligniteli (n=4) hastalar sıralanmaktaydı. Tüm hasta gruplarının biyopsi örneklerinde CMV DNA pozitifliğinin %50'nin üzerinde olması, immünsüpresif hastalarda CMV reaktivasyonunun sıklığına ve önemine dikkat çekmektedir. Bu çalışmada bazı tanı grupları için örneklem sayısı az olmakla birlikte bu durum literatürle uyumlu bulunmuştur (45–48). Hastada mevcut durumda CMV pozitifliğinin klinik karşılığı olmasa da hastanın yakın takibi, daha sonraki dönemde olası end-organ tutulum ve hasarlarının erken tespiti açısından önemli olacaktır.

Sitomegalovirüs koliti, İBH olanlarda klinik tabloyu ağırlaştırarak hastalığın seyrini etkileyebilir ve tedavi doğru yönetilemezse hastalarda kolektomiye sebep olabilir (29). Dolayısıyla ataklarla seyreden bir hastalık olan ÜK'de, hastalık atağı ile CMV kolitinin ayırımını yapmak tedavinin planlanması açısından önemlidir (46). Çalışmamızda biyopsi örneğinde CMV DNA PZR testi çalışılan hastaların yüksek oranda ÜK tanılı olması, bu hasta grubunda endoskopi/kolonoskopi yapılarak mukoza biyopsi örneklerinin incelenmesinin tanısal önemi nedeniyle beklenen bir durumdur.

Crohn ile kıyaslandığında ÜK hastalarında CMV koliti daha sık görülür (1,3,6,8–10). Bu çalışmada CMV koliti şüphesiyle laboratuvarımıza CMV DNA araştırılmak üzere gelen biyopsi örneklerinin ikisi Crohn, 51'i ise ÜK hastalarına aitti. İBH'de CMV hastalığının prevalansı %1,5 ile %4,5 arasında değişmekle birlikte, ÜK hastalarında şiddetli kolit atakları sırasında %40'a varan bir sıklıkla görülebilir (10). Prevalans oranlarının geniş aralıkta değişiyor olmasından çalışmalarda farklı özelliklerde hasta gruplarının seçilmiş olması sorumlu tutulmuştur (43,52). Bununla birlikte, özgüllüğü yüksek bir yöntem olan İHK'ye göre ise, CMV sıklığı %10 olarak bildirilmiştir (43). Çalışmamızda İHK incelemesi temel alındığında bu oran %9,8 olarak saptanmıştır ve önceki çalışmalarla uyumlu görünmektedir.

Bazı çalışmalar kadın cinsiyette CMV kolitinin daha fazla görüldüğünü bildirmekle birlikte, genel olarak cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (49,50). Bu çalışmada da cinsiyet ile CMV koliti arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Sitomegalovirüs koliti için ileri yaş risk faktörü olarak bildirilmiştir (8,59). Maconi G. ve ark. İBH atağı nedeniyle hastanede yatarak tedavi gören hastalarda 30 yaşından büyük olmanın CMV enfeksiyonu açısından risk faktörü olduğu bildirmiştir (52). Çalışmamızda önceki çalışmalara benzer şekilde hastaların yaşı arttıkça doku CMV DNA pozitifliğinin ve viral kopya sayısının arttığı görülmüştür.

Gerçek zamanlı PZR yönteminin çeşitli klinik örneklerde (kan, doku, bronkoalveolar lavaj, beyin omurilik sıvısı ve dışkı) CMV DNA'yı yüksek duyarlılıkta ve hızla tespit edebildiği kanıtlanmıştır (39). CMV koliti tanısı tek başına endoskopik muayene ile mümkün olmamakta ve farklı tanı yöntemleri bir arada kullanılmaktadır (10). Kan ve doku örnekleri viral belirteçlerin araştırılması için kullanılır. Kolon dokusundaki CMV replikasyonundan birkaç gün veya hafta sonra kanda viral nükleik asitler saptanabilir. Dolayısıyla CMV kolitinde erken dönemde enfeksiyon kolonda sınırlı kalabilir ve kanda tespit edilemeyebilir. Yapılan çalışmalarda CMV kolit tanısında kanda CMV DNA tespitinin duyarlılığı dokuda CMV DNA tespitine göre daha düşük bulunmuştur (29,53). PZR yöntemiyle dokuda CMV DNA'nın gösterilmesi önerilmekle

birlikte, kanda CMV DNA tespiti de CMV kolitinde tanıya yardımcıdır. Çalışmamızda doku CMV DNA pozitif olan hastaların plazma CMV DNA viral yükü daha yüksek bulundu. Ek olarak doku ve plazma CMV viral yükü arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki saptandı ($r=0,741$; $p<0,001$). Ancak primer enfeksiyon dışında, vireminin CMV kolitinde yaygın olmadığı unutulmamalıdır (53). Bizim sonuçlarımıza göre plazma CMV DNA tespiti, özellikle viral yükün yüksek olması kolonda CMV replikasyonu açısından yol gösterici olabilir.

Sitomegalovirüs koliti tanısında Avrupa Crohn ve Kolit Organizasyonu kılavuzları dokuda PZR ile CMV DNA tespiti veya İHK yöntemini önermektedir (54). Yapılan bir çalışmada İHK ve kantitatif PZR yöntemi karşılaştırılmış ve aralarında yüksek korelasyon saptanmıştır (55). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak İHK pozitifliği ile doku CMV DNA pozitifliği sonuçları istatistiksel olarak uyumlu bulundu. İHK pozitif olan hastaların dokudaki CMV viral yükü, negatif olanlara göre daha yüksekti. Histopatolojik inceleme ile mukozal inflamasyon da belirlenmektedir. Histopatoloji sonuçlarına baktığımızda kronik aktif inflamasyon görülen hastalarda kronik inflamasyon görülenlere göre hem doku CMV DNA pozitifliği hem de dokudaki kopya sayısı yüksek saptanmıştır.

CMV kolit semptom ve bulguları genellikle İBH hastalığı ile benzerdir. Ko J.H. ve ark.'larının çalışmasında CMV kolitine özgü tanı koydurucu bulgu olmadığı görülmüştür. Çalışmaya göre en sık saptanan bulgular; hematokezya (%51,0), diyare (%45,1), ateş yüksekliği (%15,7), karın ağrısı (%15,7), bulantı-kusma (%5,9), melena (%7,8) şeklindedir (7). Bu bulguların tümü herhangi bir bağırsak hastalığına işaret edebilir. Dolayısıyla herhangi bir gastrointestinal sistem yakınması olan hastalarda ayırıcı tanı arasında CMV olmalıdır. Çalışmamızda da en çok başvuru nedeni karın ağrısı, diyare ve kanlı diyare olup; önceki çalışmalara benzer şekilde dokudaki viral kopya sayısı ile klinik şikayetler arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Hastalık aktivitesi orta şiddetli ve şiddetli olan ÜK hastalarının %25-30'unda CMV koliti geliştiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (56,57). Çalışmamızda doku CMV DNA pozitiflik oranı hafif aktiviteli ÜK olanlarda %40 (2/5), orta aktiviteli ÜK olanlarda %65 (13/20), şiddetli aktiviteli ÜK olanlarda %64,3 (36/56) saptandı. İHK pozitifliği ise hafif aktiviteli ÜK olanlarda

saptanmazken; orta aktiviteli olanların %10 (2/20), şiddetli ÜK olanlarda %10,8 (6/56) olarak bulundu. Kolonda meydana gelen CMV reaktivasyonunun, orta şiddette ve şiddetli ÜK alevlenmelerinde kötü prognoza yol açtığı bilinmektedir (46). Çalışmamızda ÜK hastalık aktivitesi ile doku CMV DNA pozitifliğinin değiştiği gözlenirse de, istatistiksel analizde anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bu sonuca çalışmamızda hafif aktiviteli ülseratif koliti olan hasta sayısının az (n=5) olmasının neden olduğunu düşünmekteyiz. Daha geniş hasta grubuyla yapılacak çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilebilir.

Suzuki ve ark.'nın çalışmasında doku CMV DNA negatif ve pozitif olan ÜK hastalarının kolonoskopik bulguları karşılaştırılmış ve frajil mukoza, geniş mukozal defekt, zımba deliği ülser ve longitudinal ülser CMV pozitif olan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (34). Çalışmamızda kolonoskopik değerlendirmede ülser görülen 69 hastanın 43'ünde (%62,3) doku CMV DNA pozitif, 21'inde (%30,4) plazma CMV DNA pozitif, 7'sinde (%10,1) İHK pozitif. Ülser ile doku CMV DNA pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. Çalışmamızda 36 hastanın ülseri aftöz, eksudalı ve derin olarak belirtilmiştir. Ülser özelliği ile dokuda CMV DNA miktarı da ilişkili bulunmadı. İstatistiksel analize dahil edilen hastaların %851'inde ülser mevcut olup, hepsi aktif ÜK hastasıydı. Remisyondaki hastaların da dahil edildiği çalışmalarda ülser anlamlı bir bulgu olabilir. Çalışmamızda tüm örnekler inflamasyonlu mukoza alanlarından alınmıştır. Yapılan çalışmalarda ülser tabanı ve kenarından alınan biyopsilerin PZR ve İHK analizi için daha duyarlı olduğu bulunmuştur (58).

İmmünsüpresyonun CMV reaktivasyonu için kolaylaştırıcı bir faktör olduğu bilinmektedir (14). Orta ve şiddetli ÜK olan erişkin hastalarda, CMV koliti özellikle steroide yanıt vermeyen hastalarda gözlenir. Ancak bu kişilerde CMV'nin mi hastalığı şiddetlendirdiği yoksa ÜK kaynaklı şiddetli enflamasyonun mu CMV reaktivasyonuna neden olduğu net olarak bilinmemektedir (30,46). ÜK'de kortikosteroid tedavisi, azatiopürin ve siklosporin A 'nın CMV kolit ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aksine, infliksimab veya adalimumab gibi TNF- α 'ya karşı monoklonal antikolar, CMV reaktivasyonu riskini artırmamaktadır. Mesalazin ise CMV reaktivasyonu için

düşük riskli olarak tanımlanmıştır (57,59). Çalışmamızda ise hastaların 34'üne (%42) steroid tedavisi uygulanmıştır. Ancak uygulanan tedavi ajanları ile doku CMV DNA pozitifliği arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Çalışmaya alınan hastaların çoğunlukla aktif ÜK şikayetleri olan ve tedavi alan hastalar olması ve bu duruma neden olmuş olabilir.

Çalışmamızda daha öncesinde CMV reaktivasyonu olan hastaların doku örneklerinde daha yüksek viral yük tespit edilmiştir. CMV enfeksiyonunun kendisinin de immün sistemi baskıladığı bilinmektedir (57). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda artan CMV enfeksiyonu riskinin olması ve CMV'nin immün sistemi baskılayıcı etkisinin viral replikasyonu arttırması olasıdır.

Sitomegalovirüsün gastrointestinal hastalığının tanısı CMV'ye atfedilebilir semptom ve bulguların varlığıyla birlikte dokuda CMV enfeksiyonun gösterilmiş olmasıdır (45). CMV koliti tanısında kullanılacak yöntem ve eşik değerlere dair henüz bir konsensüs oluşmamıştır. Serumda CMV IgG varlığı CMV'ye maruziyet açısından yol gösterir; IgM ise primer enfeksiyonlar dışında tanı için önerilmez. Periferik kanda pp65 antijenemi testi aktif hastalığa işaret etmesi ve semi kantitatif olması bakımından yararlıdır. Ancak lökopenik hastalarda yanlış negatif sonuçlar olabilir. Histopatolojik yöntemlerden doku örneklerinde HE boyası ile CMV'ye ait viral inklüzyon cisimlerinin gösterilmesi tanı koydurucudur ve sıklıkla kullanılır. (10). Fakat bu inklüzyonlar her zaman tipik veya belirgin olmayabilir ve duyarlılığı oldukça düşüktür. Tüm tanı yöntemleri içinde önceden beri en geçerli kabul edilen yöntem dokuda İHK inceleme ile CMV varlığının gösterilmesidir. İHK yönteminin HE boyasına göre duyarlılığı daha yüksektir. (55). Ancak her iki yöntem de subjektiftir ve değerlendirmek için tecrübe gerektirir. Tanıda teknolojik gelişmelerle birlikte başlayan PZR yöntemi uzun yıllardan beri CMV enfeksiyonu tanısında kullanılmaktadır. Kanda ve/veya dokuda CMV DNA tespiti CMV kolit tanısında önerilir (37). Fakat hastalık kolonda sınırlı kalabilir veya virüsün kana geçişi hastalığın ilerleyen dönemlerinde gerçekleşebilir (62).

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemlerinin duyarlılığı ve özgüllüğüne yönelik çalışmalar yapılmıştır. PZR yöntemi İHK'den daha duyarlıdır,

değerlendiren kişiden bağımsız olmasıyla da öne çıkmaktadır (3,11,60). Ancak kolit tanısında belli bir eşik değerin olmaması ve dokuda latent halde bulunan CMV DNA'yı tespit etmesiyle yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmesi yöntemin kısıtlılığıdır (53). Roblin ve ark.'larının ÜK hastalarında yaptığı bir çalışmada ise üç farklı ÜK ilacına ve steroide dirençli hastaların doku CMV DNA miktarı 250 kopya/mg olarak belirlenmiş ve CMV DNA miktarı 250 kopya/mg ve üzerinde olan hastalara gansiklovir tedavisi verilmiştir. Tedavi alan 12 hastadan 4'ü kolektomiye giderken 8'inde iyileşme gözlenmiştir. Böylece CMV kolit tanısı için 250 kopya/mg değerinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %66 olarak saptanmıştır (29). Tezimizde bu çalışma referans alınarak doku CMV DNA miktarı 250 kopya/mg altı ve üzeri olan hastalar karşılaştırıldı. İHK pozitifliği, plazma CMV DNA pozitifliği ve CMV reaktivasyon öyküsü olan hasta oranı 250 kopya/mg ve üzeri olan hastalarda anlamlı olarak yüksek bulundu.

Literatürde 2016'da yayınlanan bir meta-analizde doku CMV DNA PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün sırasıyla %65 – 100 ve %40 – 100 arasında, plazma CMV DNA PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğünün ise sırasıyla %65 – 100 ve %40 – 94 arasında olduğu bildirilmiştir (1). Türkiye'de yapılan bir çalışmada doku CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %33 ve %89,7 olarak bulunmuştur (44). Yine ülkemizden bir çalışmada İHK ile karşılaştırıldığında plazma CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü ise sırasıyla %66,7 ve %93,5 olarak bildirilmiştir (64). Başka bir çalışmada ise doku CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü %78,9 ve %74,3 olarak saptanmıştır (43). Çalışmamızda doku ve plazma CMV DNA PZR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü literatüre benzer olarak sırasıyla %100 ve %41,9; %100 ve %48,6 olarak bulundu.

Çalışmamızda İHK altın standart yöntem kabul edilerek ROC analizi yapıldı. Doku ve plazma PZR testinde duyarlılık ve özgüllüğün sırasıyla 578 kopya/ml ve 392 kopya/mg ve üzeri değerlerde yüksek olduğu bulunmuştur. Doku için 392 kopya/mg sınır değeri alındığında duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %100 ve %83,56 olarak hesaplanmıştır. Plazma için ise 578 kopya/ml sınır değeri olarak alındığında duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %66,67 ve %100

olarak saptamıştır. Doku ve kan ROC analizleri arasında ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu sonuca göre kolonoskopi yapılamayan hastalarda kan CMV DNA sonucu tanıda doku CMV DNA sonucu kadar faydalıdır.

CMV kolitinde bağırsak mukozasında yama tarzında tutulum alanları görülmektedir. McCurdy ve ark.'ları birden fazla biyopsi örneğinde CMV DNA araştırılmasının duyarlılığı arttırdığını bildirmiştir (41). Bu çalışmada diğer hastalardan farklı olarak 17 hastada iki ayrı doku örneği değerlendirildi. Bu üç hastada çalışılan iki örneğin PZR sonucu farklı bulundu (bir hastada örneklerden biri CMV DNA negatif diğeri pozitifken, iki hastada örneklerdeki viral kopya sayıları birbirinden farklı bulundu). Bu sonuç birden fazla doku örneği çalışılmasının duyarlılığı arttırabileceğine işaret etmektedir.

CMV DNA testlerinde henüz bir uluslararası standardizasyon bulunmamaktadır. Dolayısıyla kullanılan tanı kitlerinin kantitasyon değerleri bu durum dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Özellikle doku örneklerinde CMV DNA kantitasyonu için standart bir algoritma bulunmamaktadır. Ayrıca CMV kolitinde yama tarzında mukozal tutulum olduğu unutulmamalı, dolayısıyla dokuda CMV DNA PZR sonucuna göre kesin bir tanısal eşik değer almak yerine, klinik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirildiği bir yaklaşım daha uygun olacaktır.

Bu çalışmada doku ve kan örneklerinde CMV DNA PZR testinin yüksek duyarlılık ve düşük özgüllükte olduğu görülmüştür. Dokuda CMV DNA kantitasyonu için standardize yöntemlere ihtiyaç duyulduğu unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Römken TEH, Bulte GJ, Nissen LHC, Drenth JPH. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: A systematic review. *World J Gastroenterol*. 2016;22(3):1321–30.
2. Goodgame RW. Gastrointestinal cytomegalovirus disease. *Ann Intern Med*. 1993;119(9):924–35.
3. Mourad FH, Hashash JG, Kariyawasam VC, Leong RW. Ulcerative colitis and cytomegalovirus infection: From A to Z. *J Crohn's Colitis*. 2020;14(8):1162–71.
4. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev Med Virol*. 2010;20(4):202–13.
5. Bernard S, Germe R, Lupo J, et al. Symptomatic cytomegalovirus gastrointestinal infection with positive quantitative real-time PCR findings in apparently immunocompetent patients: A case series. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(12):1–7.
6. Patra S, Samal SC, Chacko A, Mathan VI, Mathan MM. Cytomegalovirus infection of the human gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999;14(10):973–6.
7. Ko JH, Peck KR, Lee WJ, et al. Clinical presentation and risk factors for cytomegalovirus colitis in immunocompetent adult patients. *Clin Infect Dis*. 2015;60(6):20–6.
8. Lee HS, Park SH, Kim SH, et al. Risk factors and clinical outcomes associated with cytomegalovirus colitis in patients with acute severe ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(4):912–8.
9. Lawlor G, Moss AC. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: Pathogen or innocent bystander? *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(9):1620–7.
10. Yerushalmy-Feler A, Padlipsky J, Cohen S. Diagnosis and Management of CMV Colitis. *Curr Infect Dis Rep*. 2019;21(2):1–6.
11. McCoy MH, Post K, Sen JD, et al. QPCR increases sensitivity to detect cytomegalovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue of gastrointestinal biopsies. *Hum Pathol*. 2014;45(1):48–53.
12. Tun GSZ, Raza M, Hale MF, Lobo AJ. Polymerase chain reaction for detection of mucosal cytomegalovirus infection in patients with acute ulcerative colitis. *Ann Gastroenterol*. 2019;32(1):81–7.
13. Winfeld A, Worth, Jr HLH. New features of inclusion disease of infancy. *Am J Pathol*. 1948;26(1):17–35.
14. Ho M. The history of cytomegalovirus and its diseases. *Med Microbiol Immunol*. 2008;197(2):65–73.
15. Schottstedt V, Blümel J BR et al. Human Cytomegalovirus (HCMV)-Revised. *Transfus Med Hemotherapy*. 2010;37(6):365–75.
16. Structure of Human Cytomegalovirus.
17. Wang YQ, Zhao XY. Human Cytomegalovirus Primary Infection and Reactivation: Insights From Virion-Carried Molecules. *Front Microbiol*.

- 2020;11:1–21.
18. Sinzger C, Grefte A, Plachter B, et al. Fibroblasts, epithelial cells, endothelial cells and smooth muscle cells are major targets of human cytomegalovirus infection in lung and gastrointestinal tissues. *J Gen Virol.* 1995;76(4):741–50.
 19. Ataman Ş, Çolak D, Günseren F, et al. Antalya’da Sitomegalovirus Seroepidemiolojisinin Toplum Kaynaklı Kesitsel Bir Çalışma İle Araştırılması Vetürkiye Verilerinin Derlenmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2007;41(4):545–55.
 20. Satılmış A, Güra A, Ongun H, et al. CMV seroconversion in pregnant and the incidence of congenital CMV infection. *Turk J Pediatr.* 2007;49(1):30–6.
 21. 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(1):55–60.
 22. De la Hoz RE, Stephens G, Sherlock C. Diagnosis and treatment approaches to CMV infections in adult patients. *J Clin Virol.* 2002;25(2):1–12.
 23. Hicks CB, Gay C, Ferrari G. Acute HIV infection: The impact of anti-retroviral treatment on cellular immune responses. *Clin Exp Immunol.* 2007;149(2):211–6.
 24. Fowler KB, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus infection. *Semin Perinatol.* 2018;42(3):149–54.
 25. Manicklal S, Emery VC, Lazzarotto T, Boppana SB, Gupta RK. The “Silent” global burden of congenital cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(1):86–102.
 26. Razonable RR, Humar A. Cytomegalovirus in solid organ transplant recipients—Guidelines of the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019;33(9):1–23.
 27. Ljungman P, Hakki M, Boeckh M. Cytomegalovirus in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2011;25(1):151–69.
 28. Hassan-Moosa R, Chinappa T, Jeena L, Visser L, Naidoo K. Cytomegalovirus retinitis and HIV: Case reviews from KwaZulu-Natal Province, South Africa. *South African Med J.* 2017;107(10):843–6.
 29. Roblin X, Pillet S, Oussalah A, et al. Cytomegalovirus load in inflamed intestinal tissue is predictive of resistance to immunosuppressive therapy in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(11):2001–8.
 30. Ormeci AC, Akyuz F, Baran B, et al. Steroid-refractory inflammatory bowel disease is a risk factor for CMV infection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(5):858–65.
 31. Sager K, Alam S, Bond A, Chinnappan L, Probert CS. Review article: Cytomegalovirus and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(8):725–33.
 32. Umar S, Clarke K, Bilimoria F, et al. Diagnostic yield from colon biopsies in patients with inflammatory bowel disease and suspected

- cytomegalovirus infection: Is it worth it? *Ann Gastroenterol.* 2017;30(4):429–32.
33. Nakase H, Yoshino T, Honzawa Y, Chiba T. Low prevalence of CMV infection in patients with Crohn's disease in comparison with ulcerative colitis: Effect of different immune response on prevalence of CMV infection. *Dig Dis Sci.* 2010;55(5):1498–9.
 34. Suzuki H, Kato J, Kuriyama M, et al. Specific endoscopic features of ulcerative colitis complicated by cytomegalovirus infection. *World J Gastroenterol.* 2010;16(10):1245–51.
 35. Mills AM, Guo FP, Copland AP, Pai RK, Pinsky BA. A comparison of cmv detection in gastrointestinal mucosal biopsies using immunohistochemistry and pcr performed on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(7):995–1000.
 36. Vand der Bij W, Schirm J, Torensma R, et al. Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. *J Clin Microbiol.* 1988;26(12):2531–5.
 37. Rahier JF, Magro F, Abreu C, et al. Second European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis.* 2014;8(6):443–68.
 38. Chou S. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis.* 1990;12(7):727–36.
 39. Aguado S, Gomez E, Melon S, et al. Diagnosis of cytomegalovirus infections. *Nephron.* 1991;57(1):116.
 40. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol.* 2008;41(3):237–41.
 41. McCurdy JD, Enders FT, Jones A, et al. Detection of Cytomegalovirus in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Where to Biopsy and How Many Biopsies? *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21(12):2833–8.
 42. Beswick L, Ye B, Van Langenberg DR. Toward an algorithm for the diagnosis and management of CMV in patients with colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(12):2966–76.
 43. Alacam S, Karabulut N, Bakir A, et al. Diagnostic significance of cytomegalovirus DNA quantitation in gastrointestinal biopsies: Comparison with histopathological data and blood cytomegalovirus DNA. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2020;33(1):40–5.
 44. Hazır-Konya H, Avkan-Oğuz V, Akpınar H, Sağol Ö, Sayiner A. Investigation of cytomegalovirus in intestinal tissue in a country with high CMV seroprevalence. *Turkish J Gastroenterol.* 2021;32(2):123–32.
 45. Ljungman P, Boeckh M, Hirsch HH, et al. Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant patients for use in clinical trials. *Clin Infect Dis.* 2017;64(1):87–91.
 46. Camargo JF, Komanduri K V. Emerging concepts in cytomegalovirus infection following hematopoietic stem cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2017;10(4):233–8.
 47. Korkmaz M, Kunefeci G, Selcuk H, et al. The role of early colonoscopy in CMV colitis of transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005;37(7):3059–60.

48. Pillet S, Pozzetto B, Roblin X. Cytomegalovirus and ulcerative colitis: Place of antiviral therapy. *World J Gastroenterol*. 2016;22(6):2030–45.
49. Kishore J, Ghoshal U, Ghoshal UC, et al. Infection with cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease: Prevalence, clinical significance and outcome. *J Med Microbiol*. 2004;53(11):1155–60.
50. Gauss A, Rosenstiel S, Schnitzler P, et al. Intestinal cytomegalovirus infection in patients hospitalized for exacerbation of inflammatory bowel disease: A 10-year tertiary referral center experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2015;27(6):712–20.
51. Nowacki TM, Bettenworth D, Meister T, et al. Novel score predicts risk for cytomegalovirus infection in ulcerative colitis. *J Clin Virol*. 2018;105:103–8.
52. Maconi G, Colombo E, Zerbi P, et al. Prevalence, detection rate and outcome of cytomegalovirus infection in ulcerative colitis patients requiring colonic resection. *Dig Liver Dis*. 2005;37(6):418–23.
53. Paul M, Gupta E, Jain P, Rastogi A, Bhatia V. Diagnostic utility of quantitative cytomegalovirus DNA polymerase chain reaction in intestinal biopsies from patients with inflammatory bowel disease. *J Lab Physicians*. 2018;10(1):38–43.
54. Rahier JF, Magro F, Abreu C, et al. Second European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis*. 2014;8(6):443–68.
55. Zidar N, Ferkolj I, Tepeš K, et al. Diagnosing cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease—by immunohistochemistry or polymerase chain reaction? *Virchows Arch*. 2015;466(5):533–9.
56. Wethkamp N, Nordlohne EM, Meister V, Helwig U, Respondek M. Identification of clinically relevant cytomegalovirus infections in patients with inflammatory bowel disease. *Mod Pathol*. 2018;31(3):527–38.
57. Jentzer A, Veyrard P, Roblin X, et al. Cytomegalovirus and inflammatory bowel diseases (IBD) with a special focus on the link with ulcerative colitis (UC). *Microorganisms*. 2020;8(7):1–26.
58. McCurdy JD, Enders FT, Jones A, et al. Detection of Cytomegalovirus in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Where to Biopsy and How Many Biopsies? *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(12):2833–8.
59. Qin Y, Wang G, Kong D, et al. Risk factors of cytomegalovirus reactivation in ulcerative colitis patients: A meta-analysis. *Diagnostics*. 2021;11(11):1–15.
60. Suárez-Lledó M, Marcos MÁ, Cuatrecasas M, et al. Quantitative PCR Is Faster, More Objective, and More Reliable Than Immunohistochemistry for the Diagnosis of Cytomegalovirus Gastrointestinal Disease in Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(11):2281–6.

EKLER

EK – 1: Araştırma İzinleri



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 2011-KAEK-26/ 295
Konu : Etik kurul kararı

01 /04 /2022

Sayın Doç.Dr.İmran SAĞLIK
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Kurulumuza başvurusunu yaptığınız ve sorumlu araştırmacısı olduğunuz “Bağırsak biyopsi örneklerinde CMV DNA pozitifliğinin tamasal değerinin retrospektif olarak araştırılması” başlıklı araştırmanız ile ilgili kurulumuzun 30 Mart 2022 tarih, 2022-7/48 nolu kararı ekte gönderilmektedir.

Araştırmanın tamamlanma bildirimini ve özet sonuç raporunun kurulumuza iletilmesi için bilgilerinize sunulur.

Prof.Dr.Mustafa HAÇI MUSTAFAOĞLU
Kurul Başkanı

EK:
-Karar (1 adet)

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Rektörlük Binası, Görükle Kampüsü 16059 Nilüfer/BURSA
Tel: 0-224-2950020 Fax: 0-224-2950029
e-posta: uukaek@uludag.edu.tr Elektronik Ağ: www.tip.uludag.edu.tr

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bağırsık Biyopsi Örneklerinde CMV DNA Pozitifliğinin Tanısal Değerinin Retrospektif Olarak Araştırılması
------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2011-KAEK-26
	AÇIK ADRESİ	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Rektörlük Binası Kat.1 Görükle Kampüsü Nilüfer/ Bursa
	TELEFON	0.224. 295 00 20
	FAKS	0.224. 295 00 29
	E-POSTA	uukaek@uludag.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.İmran Sağlık			
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı			
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI	-Araş.Gör.Dr.Sema Esen Boyacı -Uzm.Dr.Selcan Cesur -Doç.Dr.Nesrin Uğraş -Prof.Dr.M.Enver Dolar -Doç.Dr.Harun Ağca, Prof.Dr.Beyza Ener			
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	-Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD -Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD -Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji AD -Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hast. AD Gastroenteroloji -Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Retrospektif araştırma			
	ARAŞTIRMANIN YAPILIŞ AMACI	Uzmanlık tez çalışması			
	ARAŞTIRMANIN BAŞLAMA TARİHİ/ SÜRESİ	20.04.2022 / 12 ay			
	GÖNÜLLÜ/DOSYA SAYISI	260			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı		Tarihi	Dili
		GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU		28.03.2022

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇE FORMU	<input checked="" type="checkbox"/> Tarih:28.03.2022
	ARAŞTIRICILAR İÇİN TAAHHÜTNAME FORMU	<input checked="" type="checkbox"/> Tarih:28.03.2022
	PROSPEKTİF ÖZELLİKLİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMA TAAHHÜTNAMESİ	<input type="checkbox"/>
	IKU klavuzunun okunduğuna dair taahhütname	<input type="checkbox"/>
	SONUÇ ÖZET RAPORU	<input type="checkbox"/>
DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	Araştırma ilk başvuru ön yazısı (Tarih:28.03.2022), hasta listesi, sorumlu araştırmacı özgeçmişi, tüm araştırmacılar tarafından imzalanmış Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi, literatür

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Bağırsık Biyopsi Örneklerinde CMV DNA Pozitifliğinin Tanısal Değerinin Retrospektif Olarak Araştırılması
------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Karar No: 2022-7/48 **Tarih: 30 Mart 2022**

KARAR BİLGİLERİ

Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiştir.
 1-Araştırmanın başvurusu dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna,
 2-Araştırmanın başlama tarihinin bildirilmesi ve araştırma tamamlandığında özet bir sonuç raporunun hazırlanarak kurulumuza iletilmesine,
 3-Araştırma protokolünde ve başvuru formunda yapılacak tüm değişiklikler için Etik Kuruldan izin alınması gerektiğinin sorumlu araştırmacılara iletilmesine toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu

BAŞKANIN UNVANI/ADI SOYADI Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU

ÜYELER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Elif BAŞAĞAN MOĞOL Başkan Yardımcısı	Anesteziyoloji	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.M.Sertaç YILMAZ Üye	Farmakoloji	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Hilal ÖZKAN Üye	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Yenidoğan BD	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Hasan ARI Üye	Kardiyoloji	Bursa Yüksek İhtisas EAH Kardiyoloji Kliniği	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Alpaslan TÜRKKAN Üye	Halk Sağlığı	Bursa UÜ. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Kağan HUYSAL Üye	Biyokimya	Bursa Yüksek İhtisas EAH Biyokimya	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Özen ÖZ GÜL Üye	İç Hastalıklar Endokr.ve Metab.	BUÜ.Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Endokrinoloji ve Metabolizma BD	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doktor Öğretim Üyesi Engin SAĞDİLEK Üye	Biyofizik	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Biyofizik AD	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doktor Öğretim Üyesi Sezer ERER KAFKA Üye	Tıp Tarihi ve Etik	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi. Tıp Tarihi ve Etik AD.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Ahmet BAYRAM	Hukuk	Bursa UÜ.Rektörlüğü Hukuk Bürosu	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Tolga MUHTAR Üye	Sağlık mesleği mensubu olmayan üye	Serbest Meslek	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde hem mesleki hem de hayat tecrübeleriyle bana yol gösterip katkı sağlayan, başta Prof. Dr. Beyza Ener hocam olmak üzere Prof. Dr. Cüneyt Özakın, Prof. Dr. Harun Ağca, Doç. Dr. Oktay Alver ve Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı ve İmmünoloji Ana Bilim Dalı'ndan değerli hocalarıma,

Tez çalışmamın araştırma ve yazma süreciyle her aşamasında bilgisi ve tecrübesinden faydalandığım Doç. Dr. İmran Sağlık hocama, çalışmaya katkılarından dolayı Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'ndan Doç. Dr. Nesrin Uğraş ve Gastroenteroloji Bilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Selcan Cesur'a,

Bursa'ya geldiğim andan itibaren gerek çalışma hayatında gerek iş dışında desteğini ve arkadaşlığını her daim hissettiren Uzm. Dr. Mehmet Tekinsoy'a, birlikte çalışmaktan keyif aldığım arkadaşım Dr. Osman Merdan'a, çalışma arkadaşlığından öte dostluğumuz olan Uzm. Dr. Hazel Öztürk Belik ve Uzm. Dr. Canan Taşdemir'e ve birlikte çalıştığımız diğer asistan arkadaşlarıma,

Pratik çözümleriyle çalışma hayatımızı kolaylaştıran ve hayata dair farklı bakış açıları katan Bio. Bekir Akça'ya ve uzmanlık eğitimimde bana katkısı olan adını sayamadığım asistan ve tekniker arkadaşlarıma,

Asistanlık sürecimde bana hem abla hem arkadaş olan Uzm. Dr. Demet Timur'a,

Tezimi yazma sürecimde tüm desteğiyle yanımda olan canım arkadaşım Uzm. Dr. Rabia Ruşen Tekinsoy'a,

Teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

06.01.1993 tarihinde Turgutlu'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Turgutlu Manisa'da tamamladıktan sonra 2011 yılında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde başladığım tıp eğitimimi 2017 senesinde tamamladım. Turgutlu İlçe Sağlık Müdürlüğü'nde başladığım mecburi hizmet görevimi yaklaşık 6 ay sürdürdükten sonra 2018'de Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında asistan hekimlik görevime başladım.

