

Solid Organ Nakli Alıcılarında CMV Antijenemi Testi ve CMV-DNA PCR Sonuçlarının Karşılaştırılması*

Comparison of the CMV Antigenemia Test and CMV-DNA PCR Results in Solid Organ Transplant Recipients

Emre ÖZKARATAŞ¹, Ö. Alpay ÖZBEK¹, Vildan AVKAN OĞUZ², A. Arzu SAYINER¹

¹ Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

¹ Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

² Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

² Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Izmir, Turkey.

* Bu çalışma, 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi (4-7 Haziran 2014, Ankara)'nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 05.08.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 10.12.2015

ÖZ

Sitomegalovirus (CMV) enfeksiyonu, solid organ transplant alıcılarında sık karşılaşılan önemli viral enfeksiyonlardan biridir. Bu grup hastada, CMV replikasyonunu saptayan tanı testlerinin yaygın kullanımına karşın, sonuçların yorumlanmasında, özellikle düşük viral yükün klinik anlamı konusunda fikir birliği bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında, 2011-2013 yılları arasında karaciğer ve böbrek alıcılarında CMV pp65 antijenemi testi ve plazmada kantitatif CMV-DNA gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (kPCR) yöntemiyle elde edilen sonuçlar karşılaştırılmış ve iki yöntem arasındaki korelasyon değerlendirilerek, antijenemi pozitifliğine denk gelen viral yük düzeyi belirlenmiştir. Çalışmada, pp65 antijenemi ve CMV-DNA kPCR test sonucu olan örnekler retrospektif olarak incelenmiştir. Aynı hastaya ait antijenemi ile CMV-DNA kPCR testi arasında 48 saate kadar süre olan örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Korelasyon, regresyon ve ROC analizleri için SPSS yazılımı v15.0 kullanılmıştır. Çalışmamızda, 36'sı karaciğer, 64'ü böbrek transplantasyonu yapılan 100 hastaya (59 erkek, 41 kadın; yaş aralığı: 16-71, ortalama yaş: 46 ± 13 yıl) ait 217 örneğin sonuçları değerlendirilmiştir. Hastaların %80'i CMV IgM negatif, IgG pozitif; %1'i CMV IgG ve IgM pozitif; %2'si CMV IgM ve IgG negatif olup, 17 hastanın seroloji sonuçlarına ulaşamamıştır. Örneklerin 102'sinde (%47) CMV pp65 antijenemi ve CMV-DNA negatif; 37 (%17)'sinde ise her iki test sonucu da pozitif bulunmuştur. CMV IgM ve IgG antikorları pozitif olan tek olgunun değerlendirilen tek örneğinde antijenemi ve CMV-DNA testleri negatiftir. Antijenemi negatif/CMV-DNA kPCR pozitif örnek sayısı 78 iken, antijenemi pozitif/kPCR negatif saptanan örnek yoktur. Her iki test sonucu pozitif olan ve kantite edilebilen örneklerde (n= 35), antijenemi ve kPCR ortalama değerleri sırasıyla; 23 pozitif hücre/200.000 lökosit (aralık: 1-230 pozitif

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. A. Arzu Sayiner, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balçova, İzmir, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 232 412 4501, **E-posta (E-mail):** arzu.sayiner@deu.edu.tr

hücre) ve 12.595 kopya/ml (aralık: 180-106.311 kopya/ml) olarak saptanmıştır. Her iki test ile pozitif saptanan örnekler arasındaki korelasyon anlamlı bulunmuştur ($r=0.785$). ROC analizi, plazmada 205 kopya/ml CMV viral yükünün ≥ 1 antijen pozitif hücre/200.000 lökositte karşılık geldiğini göstermiştir (duyarlılık: %91.7, özgüllük: %90.3). CMV-DNA PCR pozitif, pp65 antijenemi negatif bulunan örnekler, kPCR yönteminin analitik açıdan antijenemiye göre daha duyarlı olması ile açıklanabilir. Antijenemi pozitif/PCR negatif örneğin olmaması bu durumu desteklemektedir. ROC analizi, CMV-DNA kPCR sonucu 205 kopya/ml altındaki bir örneğin, pp65 antijeni negatif olarak kabul edilebileceğini göstermiştir. Belirlenen bu değer, çalışmada incelenen hasta grubu ve kullanılan testler için geçerli olup, grup ve testlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Anahtar sözcükler: CMV; DNA; antijenemi testi; polimeraz zincir reaksiyonu; organ transplantasyonu.

ABSTRACT

Cytomegalovirus (CMV) infection is among the most common important viral infections in solid organ transplant (SOT) recipients. Diagnostic tests for detecting CMV replication are widely used for this group of patients, however there is no clear agreement on the cut-off levels for interpretation of clinical decisions especially when the low level of viral load is detected. In this study, CMV pp65 antigenemia test results were compared with plasma CMV-DNA levels detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) in samples of kidney and liver transplant recipients in the Central Laboratory of Dokuz Eylül University Hospital between 2011 and 2013, and the correlation between these two tests and viral load equivalent to antigenemia positivity were determined. In the study, pp65 antigenemia and CMV-DNA qPCR results were evaluated retrospectively. The samples from the same patients were included if the time between antigenemia and CMV-DNA qPCR tests were less than 48 hours. SPSS v15.0 was used for correlation, regression and ROC curve analysis. The results of the 217 samples collected from 100 patients (59 male, 41 female; age range: 16-71, mean age: 46 ± 13 years), 36 liver and 64 kidney recipients were evaluated in the study. Of the patients 80% were CMV IgM negative, IgG positive; 1% was CMV IgM and IgG positive; 2% were CMV IgM and IgG negative, while for 17 patients serological results could not be reached. CMV pp65 antigenemia and CMV-DNA were both negative in 102 (47%) samples, while both were positive in 37 (17%) samples. The single sample from a case with CMV IgM and IgG positivity yielded negative results for both antigenemia and CMV-DNA tests. In 78 samples antigenemia were negative and CMV-DNA qPCR were positive, while there were no samples with antigenemia positive and qPCR negative. Mean values of antigenemia and qPCR tests were 23 positive cells/200.000 leukocytes (range: 1 to 230 positive cells) and 12.595 copies/ml (range: 180 to 106.311 copies/ml), respectively. There was a significant correlation between antigenemia and qPCR results among the samples that were positive by both assays ($r=0.785$). ROC curve analysis showed that CMV viral load of 205 copies/ml in plasma corresponds to ≥ 1 pp65 antigen positive cells per 200.000 leukocytes (sensitivity: 91.7%, specificity: 90.3%). Higher analytical sensitivity of qPCR test can be explained by the results of CMV-DNA PCR positive and antigenemia negative samples. Non-existence of samples with antigen positive and PCR negative results supported this finding. ROC analysis showed that any sample with CMV-DNA qPCR result less than 205 copies/ml, could be accepted as pp65 antigenemia negative. This viral load value is valid only for the studied patient group and assays, therefore could be changed according to study population and tests.

Keywords: CMV; DNA; antigenemia test, polymerase chain reaction; organ transplantation.

GİRİŞ

Sitomegalovirus (CMV) enfeksiyonu, solid organ nakli alıcılarında mortalite ve morbiditeye yol açan viral enfeksiyonlar arasında en sık karşılaşılanıdır. Bu hastalarda CMV replikasyonunun etkisi, özgül organ tutulumundan (akciğer, gastrointestinal sistem, ka-

raciğer, böbrek ve merkezi sinir sistemi) yaygın CMV hastalığına kadar değişkenlik gösterebilmekte, nakledilen organın kaybına yol açabilmektedir. Hastaların klinik yönetiminde, aktif CMV enfeksiyonunun önlenmesi ve tedavisi önemli bir yer tutmaktadır. Transplant alıcılarında CMV viremi, nadir görülen belirli bir organla sınırlı enfeksiyonlar dışında, genellikle CMV hastalığından önce saptanır ve gerek enfeksiyon tanısı gerekse preemtif tedavi kararının alınmasında önemli bir parametredir. Preemtif tedavinin etkinliği, CMV replikasyonunun erken aşamalarını saptayabilen uygun tanısal testlerin (pp65 antijenemi, CMV-DNA PCR) kullanımına bağlıdır¹. CMV enfeksiyonunu saptayan testlerin yaygın kullanılmasına karşın, sonuçların yorumlanmasında, özellikle düşük CMV viral yükünün klinik anlamı konusunda sıkıntılar vardır². Tedaviye başlamak için eşik değeri düşük tutmak gereksiz tedavilere, yüksek tutmak ise tedavinin gecikmesi ve dolayısıyla CMV hastalığının gelişmesine yol açabilir.

Periferik kan lökositlerinde CMV pp65 (UL83) proteininin saptanması (pp65 antijenemi), CMV enfeksiyonunun izlenmesinde popüler bir yöntem olmakla birlikte, yoğun iş gücü gerektirmesi, sonuçların değerlendirilmesinin deneyim gerektirmesi ve subjektif olması, çok sayıda örneğin çalışılmasına imkan sağlamaması gibi dezavantajları vardır. Hücreler örnek alımından sonra altı saat içinde ayrılmış, sayılmış, lama aktarılmış ve fikse edilmiş olmalıdır. Hastadan elde edilen mutlak nötrofil sayısı 2×10^6 /ml'nin altında olduğunda test güvenilir değildir^{1,3,4}.

Tanı ve izlemde kullanılabilecek diğer test, kanda viral yükün kantitatif nükleik asit testleri ile belirlenmesidir. CMV-DNA kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (kPCR) yöntemi son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır^{1,2}. Bu yöntem geniş dinamik aralıkta kantitasyon yapabilir ve standardizasyon için uygundur. Otomatize nükleik asit ekstraksiyon yöntemlerinin teste eklenmesi, sonuçların daha güvenilir ve tekrarlanabilir olmasını sağlamış, test süresini kısaltarak rutin uygulamada testin kullanımını yaygınlaştırmıştır. PCR esaslı testler, antijenemi testinden daha duyarlıdır; ancak yüksek duyarlılık, klinik anlamı tartışmalı düşük viral replikasyonların da saptanmasına yol açmaktadır. Uluslararası CMV-DNA standardı geliştirilmiş olmasına rağmen, kullanılan kPCR testleri arasındaki farklılıklar, laboratuvarlar arası standardizasyonun sağlanmasını güçleştirmektedir ve klinik anlamı belirlenmiş eşik değerler konusunda karar verilmesini zorlaştırmaktadır^{5,6}. Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında 2011-2013 yılları arasında solid organ nakli alıcılarında vireminin saptanması için lökositlerde pp65 antijenemi testi ve plazmada CMV-DNA kPCR yöntemiyle elde edilen sonuçlar karşılaştırılmış ve iki yöntem arasındaki korelasyon değerlendirilerek, antijenemi pozitifliğine denk gelen viral yük düzeyi belirlenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda; Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarında 2011-2013 yılları arasında solid organ nakli alıcılarında (karaciğer ve böbrek transplantasyonu) pp65 antijenemi ve CMV-DNA kPCR testi birlikte çalışılmış örnekler retrospektif olarak değerlendirildi. Aynı hastaya ait antijenemi ile CMV-DNA kPCR testi arasında maksimum 48 saate kadar süre olan örnekler çalışmaya dahil edildi. Alıcıların CMV enfeksiyonu açısından risk-

lerini belirlemek amacıyla, transplantasyon öncesi CMV antikor test sonuçları retrospektif olarak incelendi. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı.

CMV pp65 (UL83) antijenemi testi, indirekt immüno Floresans yöntemi ile periferik kan lökositlerinde viral matriks fosfoproteinini (pp65) saptamak için, üreticinin (CINAKit, Argene®, Fransa) talimatlarına uygun olarak yapıldı. Talimatlarda belirtildiği gibi her örnekte lökosit sayımı yapıldı ve 2×10^6 /ml hücre sayısı sağlanarak lama aktarım (sitospin) basamağına geçildi. İstenen hücre sayısına ulaşamayan örnekler çalışmaya alınmadı. Preparatlar, floresans mikroskopunda değerlendirildi ve sonuçlar 200.000 periferik kan lökositine başına pozitif hücre sayısı olarak verildi.

Plazmada CMV viral yük testi, gerçek zamanlı PCR yöntemiyle (Artus® CMV QS-RGQ Kit, QIAGEN, Almanya) üreticinin talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi. İnternal kontrol her örneğe ekstraksiyondan önce eklendi. Kitin analitik duyarlılığı 43 kopya/ml (70 IU/ml), kantitasyon aralığı $80-1 \times 10^8$ kopya/ml olup, kit içinde, yalancı negatifliklerin saptanabilmesi için internal kontrol bulunmaktadır.

İki yöntemin test sonuçlarının uyumu, korelasyon analizi ile değerlendirildi, antijenemi pozitifliğine karşılık gelen viral yük düzeyi ise ROC analizi ile belirlendi. Korelasyon analizi için, pozitif sonuç elde edilen antijenemi ve CMV-DNA (log10) verileri kullanıldı ve CMV-DNA testinde kantitasyon alt sınırından daha düşük değerler (< 80 kopya/ml) değerlendirmeye alınmadı. Korelasyon analizinden sonra lineer regresyon analizi yapıldı. Alıcı işletim karakteristik eğrisi (ROC) analizinde antijenemi yönteminin pozitifliği esas alınarak (≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre), buna karşılık gelen plazma CMV-DNA yükü hesaplandı ve antijenemi testinin pozitifliği esas alınarak, CMV-DNA kPCR testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPD) ve negatif (NPD) prediktif değerleri belirlendi. Bu değerlendirmelerde tüm CMV-DNA pozitiflikleri (80 kopya/ml değerinin altındaki ve üstündeki sonuçlar) PCR pozitif olarak gruplandırıldı. Analizler için SPSS yazılımı (versiyon 15; SPSS Inc., ABD) kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda; kriterlere uygun 100 solid organ nakli alıcısının 217 örneğine ait sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir. Olguların 59 (%59)'u erkek (22 karaciğer, 37 böbrek transplantasyonu), 41 (%41)'i kadın (14 karaciğer, 27 böbrek transplantasyonu) olup, yaşları 16-71 (ortalama yaş: 46 ± 13) yıl arasında değişmektedir.

Hastaların transplantasyon öncesi CMV serolojileri değerlendirildiğinde; 80 (%80) hastada CMV IgM negatif, CMV IgG pozitif; bir (%1) hastada CMV IgG ve CMV IgM pozitif; iki (%2) hastada CMV IgM ve IgG negatif saptanmış, 17 (%17) hastanın seroloji sonuçlarına ulaşamamıştır. Bu sonuçlara göre transplantasyon alıcılarının en az %80'i düşük riskli gruptadır.

CMV antijenemi ve CMV-DNA PCR testleri karşılaştırılarak elde edilen sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Örneklerin %64 (139/217)'ünde sonuçlar uyumludur; her iki test sonucu 67 hastaya ait 102 (%47) örnekte negatif, 23 hastaya ait 37 (%17) örnekte pozitif saptan-

Tablo I. Örneklerin pp65 Antijenemi ve CMV-DNA kPCR Sonuçlarının Dağılımı

		pp65 pozitif n (%)	pp65 negatif n (%)	Toplam n (%)
CMV-DNA pozitif	CMV-DNA \geq 80 kopya/ml	35 (16.1)	27 (12.5)	62 (28.6)
	CMV-DNA < 80 kopya/ml	2 (0.9)	51 (23.5)	53 (24.4)
CMV-DNA negatif		0	102 (47.0)	102 (47.0)
Toplam		37 (17.0)	180 (83.0)	217 (100.0)

* Beş hastada birden fazla hastalık vardır.

miştir. Her iki test sonucu pozitif olan ve kantite edilebilen örneklerde (n=35), antijenemi ve kPCR ortalama değerleri sırasıyla; 23 pozitif hücre/200.000 hücre (aralık: 1-230 pozitif hücre/200.000) ve 12.595 kopya/ml (aralık: 180-106.311 kopya/ml) olarak bulunmuştur. Antijenemi yöntemiyle pozitiflik saptanan 2 hastaya ait 2 örnekte CMV-DNA değeri kantitasyon alt sınırının altındadır (< 80 kopya/ml).

Her iki test sonucu kantite edilebilen 35 örnek çiftinden, 29'unda antijenemi ve PCR testleri aynı gün, 6'sında farklı günlerde çalışılmıştır. Testlerin aynı gün veya farklı günlerde çalışılmasına göre elde edilen sonuçlar Tablo II'de özetlenmiştir. Buna göre gruplar arasında her iki testin kantitatif değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p \geq 0.05$).

pp65 anijenemi testi negatif 43 hastaya ait 78 örnekte (%36), CMV-DNA pozitif bulunmuştur. Bunlardan 32 hastaya ait 51 örnekte viral yük kantitasyon alt sınırından daha düşüktür. On sekiz hastaya ait 27 (%12.5) örnekte viral yük ortalama 802 kopya/ml (aralık: 80-8369 kopya/ml) olarak belirlenmiştir. Antijenemi pozitif olup PCR ile negatif bulunan örnek yoktur.

Her iki test ile pozitif saptanan örnekler değerlendirildiğinde; plazma CMV-DNA kopya/ml sayısı ile pp65 pozitif hücre sayısı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r = 0.785$). Lineer regresyon analizi Şekil 1'de gösterilmiştir.

CMV antijenemi ve CMV PCR testleri farklı günlerde çalışılan 31 örnek çifti bulunmaktadır. Bunlardan beşi, hasta tedavi almakta iken çalışılmıştır. Bu olgulardan birinde

Tablo II. Her İki Test Sonucu Pozitif Olan ve Kantite Edilebilen Örneklerde Test Sonuçları

Test		Aynı gün çalışılan örnekler (n: 29)	Farklı günlerde çalışılan örnekler* (n: 6)	p değeri**
CMV pp65 antijenemi (Pozitif hücre/200.000 hücre)	Ortanca değer (aralık)	3 (1-230)	8 (1-54)	p= 0.33
	Ortalama değer	25	20	
CMV-DNA PCR (kopya/ml)	Ortanca değer (aralık)	1178 (80-106311)	443 (214-14090)	p= 0.74
	Ortalama değer	14544	3193	

* Testler arası 24-48 saat fark olan örnekler;
** Mann-Whitney U testi.

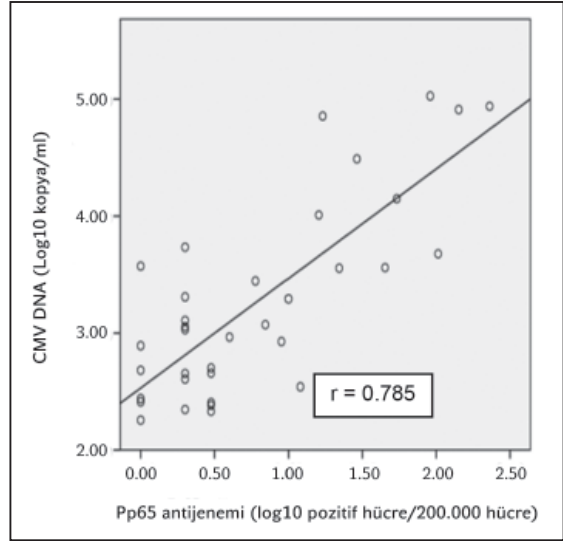
her iki test negatif, birinde her iki test pozitif, üçünde ise antijenemi negatif ancak CMV-DNA PCR pozitif bulunmuştur. Antijenemi ve PCR testlerindeki viral kinetikler tedavi altında farklı olabildiği için, söz konusu beş örnek çifti ROC analizine dahil edilmemiştir.

Antijenemi pozitifliğine karşılık gelen CMV-DNA değerini belirlemek amacıyla, pp65 antijenemi pozitifliği (≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre) esas alınarak ROC analizi yapılmıştır (Şekil 2). Antijenemi pozitifliğine karşılık gelen CMV-DNA düzeyi, %91.7 duyarlılık ve %90.3 özgüllük ile 205 kopya/ml olarak belirlenmiştir; ROC analizine ilişkin sonuçlar Tablo III'te gösterilmiştir. Antijenemi negatif ancak viral yükü 205 kopya/ml'nin üzerinde olan 17 örnek çifti bulunmuştur. Bu örnekler antijenemi negatif/PCR pozitif toplam 75 örneğin %22.6'sını oluşturmaktadır.

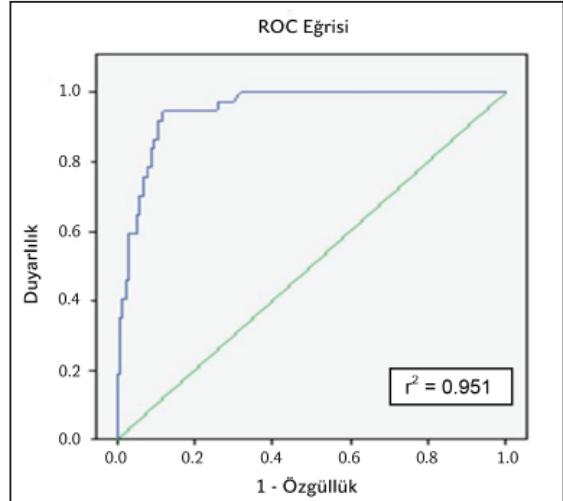
Antijenemi testinin pozitifliği esas alındığında, CMV-DNA kPCR testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %56.6, PPD %32.2 ve NPD %100 olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA

Gerek testler arası değişkenler, gerekse hastalarda kullanılan tanı, izlem ve tedavi farklılıkları, solid organ transplant (SOT) alıcılarında CMV enfeksiyonu için klinik kararlarda kullanılacak viral eşik değerler konusunda fikir birliği oluşmasını güçleştirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2010'da CMV-DNA uluslararası standardının (IS) geliştirilmesi, testler arası değişkenliklerin azaltılması için önemli bir basamak olmuştur. Ancak halen her merkezin kendi koşullarına uygun eşik değerleri belirlemesi ve hasta izleminde test değişikliği yapılmaması öneril-



Şekil 1. pp65 antijenemi ve CMV-DNA kPCR ile pozitif bulunan örneklerin lineer regresyon analizi.



Şekil 2. ROC analizi eğrisi.

Tablo III. ROC Analizi Sonuçları

CMV-DNA PCR (kopya/ml)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
161	94.4	89.2
181	91.7	89.2
189	91.7	89.8
205	91.7	90.3
218	88.9	90.3
230	86.1	90.3
240	86.1	90.9

mektedir. Merkezimizde SOT alıcılarında, CMV pp65 antijenemi ve plazmada CMV-DNA kPCR sonuçları karşılaştırılarak, iki test arasındaki korelasyon ile düşük viral yük düzeylerinin antijenemi testindeki karşılığı araştırılmıştır. Çalışmamızda viremiyi saptamada plazma CMV-DNA PCR ile antijenemi arasındaki uyum %64 olarak bulunmuştur. Uyumsuz örneklerin tümü (n= 78) PCR pozitif, antijenemi negatiftir. Bu durum, PCR yönteminin pp65 antijenemi testine göre daha duyarlı olmasına bağlıdır¹. Antijenemi negatif örneklerin yarısından fazlasında (%65) viral yük düşük olup, kantitasyon alt sınırı olan 80 kopya/ml'nin altındadır.

Çalışmamızda, her iki testle pozitiflik saptanan örneklerin kantitatif sonuçları arasında iyi bir korelasyon saptanmıştır (r= 0.785). İtalya'dan bildirilen 45 SOT (kalp ve böbrek) alıcısının değerlendirildiği bir çalışmada, pozitif antijenemi ve pozitif CMV-DNA viral yük değerleri arasındaki korelasyon benzer (r= 0.718) olarak saptanmıştır¹. Çalışmamızda 53 örnekte (%24.4) viral yük, testin kantitasyon alt sınırının altında sonuçlanmıştır, bu değerleri klinik açıdan yorumlamak zordur. CMV-DNA kPCR testinin duyarlılık, özgüllük ve prediktif değerleri incelendiğinde; enfeksiyonu ekarte etmede başarılı olduğu (%100 NPD), ancak pozitif saptandığında antijenemi pozitifliğine kanıt olamayacağı görülmektedir (%32.2 PPD).

Çalışmamızda pp65 antijenemi pozitifliği (≥ 1 pozitif hücre/200.000 hücre) esas alınarak uygulanan ROC analizinde; SOT alıcılarında antijenemi pozitifliğine denk gelen CMV-DNA eşik değeri, 205 kopya/ml (duyarlılık: %91.7, özgüllük: %90.3) olarak bulunmuştur. Bu sonuç, merkezimizde kullanılan testler ve çalışmanın yapıldığı hasta popülasyonu için, kPCR yöntemiyle pozitiflik saptandığında, hangi düzeylerin daha anlamlı olabileceği konusunda klinisyenlere yol göstermektedir. Buna göre, 205 kopya/ml altındaki viral yük sonuçlarında belirlenen güven aralığında, antijenemi testinin negatif olacağı öngörülerek karar verilebilir. Benzer bir çalışma, Türkiye'de kök hücre transplantasyonu alıcılarında yapılmış, CMV pp65 antijenemi testi ile iki farklı kPCR testi sonuçları karşılaştırılmıştır⁷. Bu çalışmada, antijenemi pozitifliğine (≥ 1 pozitif hücre/ 200.000 hücre) karşılık gelen viremi değeri testlerden birinde 1543.5 kopya/ml, diğerinde 423 kopya/ml olarak belirlenmiştir⁷.

Sunulan bu çalışma, hasta izlem sonuçlarını ve klinik verileri kapsamamaktadır. Bu nedenle SOT alıcılarında CMV ile ilişkili hastalıkların preemptif tedavi ile önlenmesi ve tanısı için klinik açıdan anlamlı eşik değerlere duyulan gereksinime tam olarak yanıt vermemektedir. Genel olarak, antijenemi testi CMV hastalığından 5-14 gün önce, PCR ise antijenemiden yaklaşık bir hafta önce pozitifleşmektedir. Yapılan bir çalışmada, böbrek transplantasyonunda seropozitif alıcı ve verici çifti için preemptif tedavi başlama sınırı değeri olarak antijenemi testinde 4 pozitif hücre/1.000.000 hücre, laboratuvar yapımı kPCR testinde 2.000 kopya/ml sınırının kullanılması öngörülmüştür⁸. SOT alıcılarında gerek antijenemi gerekse CMV-DNA PCR sonuçları; alıcı ve vericinin CMV açısından seropozitifliği, alıcının immün süpresyonu, uygulanan tedavi, antiviral profilaksi verilip verilmemesi, kullanılan testlerin özellikleri gibi birçok parametreden etkilenmektedir⁶. Kemik iliği transplant alıcılarında ise, viral dinamiklerin daha hızlı olduğu ve düşük viral yükün bile klinik açıdan anlamlı olduğu gösterilmiştir^{2,4}.

CMV pp65 antijenemi ile CMV-DNA PCR testleri arasında genel bir uyum olmakla birlikte, testlerin farklı parametreleri değerlendirdiği göz önüne alınmalıdır. Uyumsuz test sonuçları değerlendirilirken, PCR'nin genellikle antijenemiden önce pozitifleştiği, tedavi alan hastalarda ilk günlerde PCR testinde viral yükte bir artış saptanabileceği, ileri lökopeni durumlarında antijenemi testinin negatif olabileceği hatırlanmalıdır^{9,10}.

CMV seroloji sonuçları ile viremi arasında doğrudan bir ilişki bulunmamaktadır. Bu nedenle, SOT alıcılarında CMV enfeksiyonunu değerlendirmede serolojik göstergelerin yeri sınırlı olup, transplantasyon öncesi alıcı ve vericide seropozitifliğin belirlenmesine yöneliktir. CMV IgM ve IgG birlikte pozitif bulunan tek olgumuzda, viremi değerlendirmesi tek örnekte yapılmış, antijenemi ve CMV-DNA testleri negatif bulunmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada, karaciğer ve böbrek transplant alıcılarından oluşan bir grupta pp65 antijenemi testinde 1 pozitif hücre/200.000 hücreye karşılık gelen CMV-DNA PCR testi değeri 205 kopya/ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, hasta izleminde testler arasında geçiş yapıldığında ve düşük viral yük sonuçlarının klinik açıdan yorumlanmasında yardımcı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Dr. Erdem Erkoyun ve Dr. Yasin Sağlam'a istatistiksel analizlerdeki katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Boaretta M, Sorrentino A, Zantedeschi C, Forni A, Boschiero L, Fontana R. Quantification of cytomegalovirus DNA by a fully automated real-time PCR for early diagnosis and monitoring of active viral infection in solid organ transplant recipients. *J Clin Virology* 2012; 56(2): 124-8.
2. Waggoner J, Ho DY, Libiran P, Pinsky BA. Clinical significance of low cytomegalovirus DNA levels in human plasma. *J Clin Microbiol* 2012; 50(7): 2378-83.
3. Alice T, Cerutti F, Pittaluga F, et al. Evaluation of a novel real-time PCR system for cytomegalovirus DNA quantitation on whole blood and correlation with pp65 test in guiding pre-emptive antiviral treatment. *J Virol Methods* 2008; 148(1-2): 9-16.

4. Kalpoe JS, Kroes AC, de Jong MD, et al. Validation of clinical application of cytomegalovirus plasma DNA load measurement and definition of treatment criteria by analysis of correlation to antigen detection. *J Clin Microbiol* 2004; 42(4): 1498-504.
5. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant* 2009; 9(2): 258-68.
6. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26(4): 703-27.
7. Çolak D, Kazık M, Mutlu D, Uygun V, Karagül A, Hazar V. Assessment of cytomegalovirus (CMV) load in hematopoietic stem cell transplant recipients by CMV antigenemia and two different real-time PCR assays. *J Clin Virol* 2009; 46 (Suppl 1): S47.
8. David-Neto E, Triboni AH, Paula FJ, et al. A double-blinded, prospective study to define antigenemia and quantitative real-time polymerase chain reaction cutoffs to start preemptive therapy in low-risk, seropositive, renal transplanted recipients. *Transplantation* 2014; 98(10): 1077-81.
9. Rhee JY, Peck KR, Lee NY, Song JH. Clinical usefulness of plasma quantitative polymerase chain reaction assay: diagnosis of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2011; 43(7): 2624-9.
10. Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis* 2012; 54(12): 1793-7.