

CMV IgM Olumlu Olgularda CMV IgG Avidite Testinin Değerlendirilmesi

İmre ALTUĞLU(*), Ayşın ZEYTİNOĞLU(*), Tülin KARVAN(*), Tijen ÖZACAR(*), Altınay BİLGİÇ(*)

(*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

ÖZET

CMV'ye özgül IgM yanıtı primer infeksiyon yanı sıra, latent reaktivasyon, reinfeksiyon ve bazen CMV dışı hastalıklar sırasında da oluşabilmektedir. Bu çalışmada enzim immünoassay (EİA) yöntemi ile CMV IgM ve IgG birlikte olumlu olgularda avidite testinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya alınan 39 örneğin yedisinde (%23.3) avidite indeksi %40'ın altında bulunmuştur. En az iki EİA sistemi ile CMV IgM olumlu olan 22 örneğin altısında (%27.2) avidite indeksi düşük belirlenmiştir, CMV IgM'nin bir sistem ile olumlu olduğu veya sınırda olumlu bulunan 17 olgunun birinde (%5.9) avidite indeksi düşük olarak saptanmıştır. CMV IgM ve IgG EIA testleri ile beraber avidite testlerinin yapılması, primer CMV infeksiyonu tanısında yararlı olabilir.

Anahtar sözcükler: CMV, avidite, avidite indeksi, enzim immünoassay

SUMMARY:

Evaluation of CMV IgG Avidity Test in CMV IgM Positive Patients

CMV specific IgM response is observed in latent reactivation, reinfection and sometimes during the course of non-CMV illness in addition to primary CMV infection. In the study, CMV IgG avidity test is evaluated in CMV IgM and IgG positive patients. Avidity index was below 40% in seven out of 39 patients (23.3%). In 22 patients that have CMV IgM positive results with at least two EIA systems, six (27.2) had low avidity index. On the other hand of 17 patients that have indeterminate CMV IgM result or reactivity at most one EIA system, one patient (5.9%) had low avidity index. CMV IgG avidity tests may be useful for diagnosis of primary CMV infection when used in coordination with CMV IgM and IgG EIA tests.

Key Words: CMV, avidity, avidity index, enzyme immunoassay

GİRİŞ

Sitomegalovirüs (CMV), hem pediatrik hem de erişkin çağda infeksiyonlara neden olan bir DNA virüsüdür. İnfeksiyon, sağlıklı bireylerde genellikle asemptomatik seyrederek. Semptomatik seyreden CMV hastalığı yenidoğan döneminde CMV inklüzyon hastalığı ve erişkinde infeksiyöz mononükleoz benzeri tablo oluşturabilir (1). CMV, immün sistemi baskılanmış kişilerde özellikle organ, kemik iliği alıcılarında, kanserli hastalarda ve HIV olumlu hastalarda ciddi morbidite ve mortalite nedenidir. CMV infeksiyonun sorun yaratabileceği diğer bir grup gebelerdir; çünkü CMV, konjenital infeksiyonların en önemli etkenlerinden biridir (2). İnfeksiyon, birincil veya ikincil olarak geçirilir. İkincil infeksiyonlar reaktivasyon veya reinfeksiyon şeklindedir. Birincil infeksiyonlar, klinik açıdan reaktivasyon veya reinfeksiyonlardan

daha önemlidir. Gebelikte annede primer infeksiyon varlığında intrauterin infeksiyon riski reaktif infeksiyonlardan çok daha yüksek olup yaklaşık %40'a ulaşır (3). Bu primer infeksiyonların genellikle semptomatik olduğu immün sistemi baskılanmış hastalar açısından da önemlidir.

CMV infeksiyonu tanısında kullanılan yöntemler vücut sıvılarında virüsün üretilmesi, nötrofillerdeki matris proteini pp65'in saptanması, moleküler yöntemler ile CMV DNA veya RNA'sının saptanması, serolojik yöntemler ile özgül antikorların saptanmasıdır (1). Serolojik testler ile primer CMV infeksiyonu tanısı daha önce seronegatif olduğu bilinen kişilerde antikorların saptanması-serokonversiyon- ve IgM olumluluğu ile olasıdır. Ancak, CMV'ye özgül IgM yanıtı birincil infeksiyon yanı sıra, latent reaktivasyon, reinfeksiyon ve bazen CMV dışı hastalıklar

sırasında da oluşabilmektedir (4)

Viral yapısal polipeptidlere karşı oluşan CMV antikorlarının immüno blot analizi ile birincil infeksiyon ikincil infeksiyondan ayırt edilebilir; ancak bu amaçla geliştirilmiş ticari kit yoktur ve işlem zamanı alıcıdır (3) İnfeksiyonun erken döneminde oluşan IgG antikorları, epitoplara karşı düşük aviditeye sahiptir. Bu nedenle düşük aviditeli antikorların saptanması yakın dönemde geçirilen birincil infeksiyonun tanısı açısından yararlıdır. Üre denatürasyonu ile gerçekleştirilen CMV IgG avidite testinin yakında edinilmiş birincil CMV infeksiyonu tanısında yardımcı olabileceği gösterilmiştir (5).

Bu çalışmada enzim immünoassay (EIA) yöntemi ile anti CMV IgM ve IgG birlikte olumlu bulunan olgularda avidite testinin yakında geçirilmiş infeksiyonları saptamadaki değerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, laboratuvara CMV IgM ve IgG saptanması için gönderilen ve EIA CMV IgM testi olumlu veya sınırda olumlu bulunan 39 hastanın serum örneği incelenmiştir. Olgular yaşları 1 ile 71 arasında değişen (yaş ortalaması 33.5), 25 kadın, 14 erkek olmak üzere 39 hastaydı. Kontrol grubu olarak yaşları 21 ile 53 arasında değişen (yaş ortalaması 33.4), önceden CMV IgG olumlu olduğu bilinen, 12 kadın, 3 erkek olmak üzere 15 kişi incelenmiştir. CMV IgM testi enzim linked floresan assay (ELFA) (Vidas, Biomerieux, Fransa), mikropartikül enzim immün testi (MEİA), (AxSYM, Abbott, ABD) ve mikroenzim immün assay (mEİA) (Organon teknika, Hollanda) yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Bu yöntemlerden herhangi biri ile olumlu veya sınırda olumlu bulunan hastalar çalışmaya alınmıştır.

Çalışmada sürecinde, avidite testi için üç farklı mEİA CMV IgG enzim immün assay kiti (Biokit, İspanya ve Diagnostic Laboratories, USA ve Trinity, USA) kullanıldı. Her örnek için iki ayrı çukur kullanılmıştır. Çukurlardan birine hasta serumu ile inkübasyon ve yıkamanın ardından 100 mikrolitre avidite reageni (Panbio, Avustralya) koyularak oda ısısında beş dakika inkübe edilmiştir. Dört kez yıkamanın ardından diğer basamaklara geçilmiştir. Avidite indeksi IgG titrelerinin oranına (ürel/üresiz titreler X100) göre hesaplanmıştır. Avidite indeksi %40'a eşit veya

altında olanlarda yakın dönemde geçirilmiş CMV infeksiyonu olarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler Fisher'in kesin χ^2 testi ile yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 39 örneğin yedisinde (%23.3) avidite indeksi %40'ın altında bulunmuştur. Aviditeleri düşük olarak saptanan yedi olgunun beşinde primer CMV infeksiyonunu düşündürülen klinik bulgular vardı. Diğer iki olgunun biri organ nakli, diğeri akut lenfoblastik lösemi hastasıydı. İgMleri sınırda saptanan olguların hiçbirinde düşük avidite indeksi saptanmıştır. Diğer bir örnekte avidite indeksi %41 olarak saptanmıştır. Bu örnekte IgM üç sistem ile olumlu olarak bulunmuştur. Düşük aviditeli olgulardan dördü izleme alınmıştır. İzlemede aviditelerin yükseldiği saptanmıştır. Organ alıcısı bir hasta dışında IgM'nin olumsuzlaştığı izlenmiştir. Çalışmada en az iki EİA sistemi ile CMV IgM olumlu olan 22 örneğin altısında (%27.2), CMV IgM'in bir sistem ile olumlu olduğu veya sınırda bulunan 17 olgunun ise birinde (%5.9) avidite testi düşük olarak saptanmıştır ($\chi^2=1.7$, $p=0.192$). Çalışmaya alınan hastaların CMV IgM EİA ve avidite sonuçları Tabloda özetlenmiştir (Tablo 1). Kontrol grubunda avidite indeksi %52-74 (ortalama %63) arasında saptanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

CMV seroprevalansı yaş, coğrafik lokalizasyon, etnik ve sosyoekonomik koşullara bağlı olarak %30 ile

Tablo 1. Olguların CMV igM EİA ve avidite sonuçları

CMV İGM EİA Sonuçları	Olgu sayısı	Düşük aviditeli olgu sayısı
En az 2sistem ile olumlu	22	6(%22.7)
En az 1 sistem ile olumlu veya sınırda olumlu	17	1(%5.9)

%100 arasında değişir(3). İzmir bölgesindeki CMV ile karşılaşma prevalansının belirlendiği bir çalışmada, CMV infeksiyonu açısından değerlendirilen 2003 olguda ve 300 kan vericisinde anti-CMV antikorları araştırılmış, birinci grupta %91.6, ikinci grupta %95 CMV seropozitifliği saptanmıştır (6). İzmir bölgesinde 1213 infertil kadında yapılan bir çalışmada antiCMV IgG ve IgM antikorları araştırılmıştır. Hiçbir hastada CMV IgM olumluluğu saptanmamış, %96.5 olguda CMV igG olumluluğu saptanmıştır(7). Steril-infertil 112 kadında yapılan bir çalışmada 18-40 yaş arası kadınların %91.07'sinde IgG

olumluluğu, %8.03 olguda İgM olumluluğu saptanmıştır (8).

Bazı hasta gruplarında, birincil infeksiyon kesin tanısı klinik açıdan önemlidir. Seronegatif bir hastanın seropozitifleşmesi primer CMV infeksiyonu için tanı koydurucu olmakla beraber bu sadece yakından izlenen hastalar için olasıdır. Birincil infeksiyonun geç dönemlerinde İgM yanısıra İgG de pozitifleştiğinden serokonversiyon araştırılarak birincil infeksiyon tanısını koymak olanaksızdır. Rubella infeksiyonunda kullanılan üre denatürasyon işleminin (9), CMV'ye özgü avidite ölçümünde de kullanılabilceğı (10) ve böylece yakın primer CMV infeksiyonunun tanısında yararlı olabileceğı gösterilmiştir(9).

Gebelerde ve transplant alıcılarında yapılan bir çalışmada primer infeksiyon geçirenlerin %88.6'sında düşük avidite indeksi saptanırken, sekonder infeksiyonu olanların hiçbirinde düşük indeks saptanmamıştır (5). Yapılan bir çalışmada yüksek anti CMV antikor aviditesine sahip annelerin çoğunun infeksiyonu bebeğe geçirmediğı gözlenmiştir (11).Yapılan bir diğer çalışmada birincil CMV hastalığında ortalama avidite indeksinin %35, geçirilmiş CMV hastalığında %87.9 olarak saptanmıştır (12). Çalışmamızda, en az 2 EİA sistemi ile olumlu olan 22 örneğin 6'sında (%27.2) , CMV İgM'in bir sistem ile olumlu olduğu veya sınırda bulunan 17 olgunun ise sadece birinde (%5.9) avidite testi düşük olarak saptanmıştır. Yüzdeler arasında belirgin bir fark olmakla beraber Fisher'in kesin chi² testi ile yapılan değerlen-dirmede fark anlamlı bulunmamıştır; bu da çalışılan grup sayısının düşüklüğüne bağlanmıştır.

Organ alıcılarında normal bireylerde görülen 2-6 aylık yüksek avidite olgunlaşmasının en azından bir yıl sürdüğü yani solid organ transplantasyonu olanlarda primer infeksiyonun ardından CMV'ye özgü antikor matürasyonunun geciktiğı gözlenmiştir. Organ transplant alıcılarında gecikmiş yüksek aviditeli antikor yanıtının gecikmiş virüs klirensi ile ilişkili olduğu ve riskli prognozun bir göstergesi olduğu öne sürülmüştür. (13). Bu çalışmada üç yıl önce primer CMV hastalığı geçiren düşük aviditeli renal transplant olgusunun aviditesinin halen %40'ın altında olduğu gözlenmiştir., ancak 8 ay sonraki izlemde CMV İgM olumlu olmasına karşın aviditenin yükseldiğı gözlenmiştir. Bu gözlemler de organ alıcıla-

rında avidite testinin değerlendirilmesinde farklılıklar olduğunu düşündürmektedir.

CMV İgM ve İgG testleri ile birlikte avidite testinin yapılması CMV infeksiyonu tanısında bir avantaj sağlayabilir, şöyle ki CMV İgM olumlu gebeler, immün sistemi baskılanmış hastalar gibi birincil infeksiyon ile reaktivasyon ayrımının yapılmasının önemli olduğu olgularda CMV İgG avidite testi yararlı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Ho M: Cytomegalovirus. " G L Mandell, J E Bennett, R Dolin (ed): Principles and Practice of Infectious Diseases", p 1351,3rd ed. Churchill Livingstone, New York (1995).
2. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Phaller MA: Medical Microbiology, p 419, 3rd Ed. Mosby Inc, Missouri, (1997).
3. St George K, Rowe DT, Rinaldo CR: Cytomegalovirus, Varicella-Zoster Virus, Epstein Barr Virus." Specter S, Hodinka RL (ed): Clinical Virology Manual ", p 410, ASM Press, Washington DC (2000).
4. Keros-Grangeot L, Mayaux MJ, Lebon P, Freymuth F, Eugene G, Stricker R, Dussaix E: Value of Cytomegalovirus IgG avidity index for diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. J Infect Dis 175: 944 (1997).
5. Lazzarotto T, Spezzacatena P, Pradelli P, Abate DA, Varani S, Landini MP: Avidity of immunoglobulin G directed against Human Cytomegalovirus during primary and secondary infections in immunocompetent and immunocompromised subjects. Clin Diagn Lab Immunol 4: 469 (1997).
6. Tüzün Hİ, Bilgiç A, Erensoy S: İzmir bölgesinde antisitomegalovirüs prevalansı. İnfeksi Derg 5:269 (1991).
7. Tavmergen E, Erensoy MS, Bilgiç A, Tavmergen EN, Oruç S: Prevalance of Cytomegalovirus markers in Infertile Women. Med J Ege Univers 3:65 (1993).
8. Cengiz AT, Kıyan M, Cengiz L, Aksoy AM, Uğurel MŞ, Kara F, Kılıç H: Steril, infertil kadınların serumunda Cytomegalovirus İgG ve İgM'nin ELİSA ile gösterilmesi. İnfeksi Derg 7:239 (1993).
9. Hedman K, Rousseau SA: Measurement of avidity of specific IgG for verification of recent rubella. J Med Virol 27: 288 (1989).
10. Blackburn NK, Besselaar TG, Schaub BD, O'Connell KF: Differentiation of primary cytomegalovirus infection from reactivation using urea denaturation test for measuring antibody avidity. J Med Virol 33: 6(1991).
11. Landini MP, Schmitz H: Antibodies to human cytomegalovirus structural polypeptides during primary infection. J Virol Method 22:309 (1998).
12. Lafarga B, Noguera FJ, Bolanos M, Perez MC, Rodriguez H: Performance of the IgG avidity test in patients with cytomegalovirus disease. Enferm Infect Microbiol Clin 15:190 (1997).
13. Lutz E, Ward KN, Gray JJ: Maturation of antibody avidity after primary human cytomegalovirus infection is delayed in immunosuppressed solid organ transplant patients. J Med Virol 44:317 (1994).