

CYTOMEGALOVİRUS (CMV) İNFEKSİYONLARININ TANISINDA ÇEŞİTLİ LABORATUVAR YÖNTEMLERİNİN YERİ VE ÖNEMİ

A.Tevfik Cengiz* • Lügen Cengiz** • G.İştar Dolapçı*

ÖZET

Bu yazımızda CMV infeksiyonlarının serolojik tanısında kullanılan yöntemler gözden geçirilmiş ve kompleman fiksasyon, indirek floresan antikor, enzyme-linked immunosorbent assay, polimeraz zincir reaksiyonu ve diğer yöntemlerin tanı değeri üzerinde durularak, CMV IgM ve IgG'nin önemi açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Cytomegalovirus, infection

SUMMARY

Importance of Various Laboratory Methods for the Diagnosis of Cytomegalovirus (CMV) Infections

In this article, we reviewed the diagnostic value of serological methods in CMV infections, that includes complement fixation, indirect fluorescent antibody, enzyme-linked immunosorbent assay, polymerase chain reaction and we explained the importance of detecting CMV IgM and CMV IgG antibodies.

Key Words: Cytomegalovirus, infection

Cytomegalovirus (CMV) infeksiyonu, her yaşta görülebilen, sağlıklı kişilerde genellikle asemptomatik seyreden bir hastalıktır. Viremi ile karakterize primer infeksiyondan sonra virus latent hale geçmekte ve çeşitli sebeplerle immün sistemin baskılandığı durumlarda, antikor varlığına rağmen, yeniden reaktive olabilmektedir. Organ transplantasyonu yapılanlar, maligniteli hastalar, immunsupresif ilaç kullananlarla birlikte, sık kan transfüzyonu geçirenler ve gebeler de CMV infeksiyonları için risk altındadırlar. Özellikle konjenital infeksiyon hastalıkları arasında CMV önemli bir konumda olup, CMV infeksiyonu bulunan annelerin infekte bebeklerinde, iştih ve gelişme başta olmak üzere çeşitli problemler ortaya çıkmakta ve tekrarlayan CMV infeksiyonları, sorunun önemini daha da arttırmaktadır (1-5). Dolayısıyla bir toplumda gebelik öncesi ve gebelik sırasında CMV infeksiyonları, bebekler için önemli bir sağlık sorunu meydana getirmektedir. Gebelerde TORCH etkenlerine karşı antikorların saptanması, konjenital risk oranının belirlenmesinde, büyük önem taşımaktadır (6,7). Konjenital CMV infeksiyonunun sekel ve komplikasyon oranları, ırk ve sosyoekonomik yapıları farklı toplumlara göre değişmektedir (8).

CMV akut infeksiyonunu takiben viral ekskresyon olur, ancak süresi ve miktarı çok değişkendir. İnfeksiyonu geçirmemiş kişiler de intermittan olarak virüsü atabilirler. Bu nedenle virus ekskresyonunun gösterilmesi, erişkinlerde akut infeksiyonun gösterilmesinde kullanılmaz. En güvenilir yöntem iki hafta ara ile alınan örneklerde serokonversiyonun ya da dört kat titre artışının gösterilmesidir. Tek örnekte IgM cinsi antikorun saptanışı da tanı koydurucudur. IgM yanıtı genellikle 16-20 hafta devam eder. IgM, nadiren, muhtemelen reaktivasyona bağlı olarak normal popülasyonda da saptanır. Mümkün olduğunca CMV'nin serolojik tanısının virus izolasyonu ile konfirme edilmesi gerektiği ileri sürülmektedir. Bunun sebebi sağlıklı kişilerde de IgG cinsi CMV antikorları düzeyinde 4 katı oynamaların olabileceğidir (9,10).

CMV infeksiyonu ve reaktivasyonunun tanısında virusun izolasyonu en iyi tanı metodu olmakla birlikte, kompleman fiksasyon (CF), indirek floresan antikor deneyi (IFA), radioimmunoassay (RIA), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleri gibi bir çok yöntem kullanılmaktadır (1,9,11-16).

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Kompleman fiksasyon (CF) yönteminde, CMV AD₁₆₉'dan hazırlanan antijenlerle mikrotitre yöntemi uygulanmaktadır. Bu testte 1/8 ve 1/8'den büyük titrer pozitif olarak kabul edilmektedir. İnfeksiyonun seyri esnasında hastanın kanında meydana gelen komplemanı fikse eden antikorların ortaya çıkarılmasına yönelik bir testtir. Bu antikorların infeksiyonun 4.haftasından sonra oluştuğu ve yüksek titrenin devam süresinin değişik olduğu bildirilmiştir (9,12,17,18). CMV CF antikor titresinin 4 kat veya daha fazla artmasının, tanıda güvenilir ve spesifik bir ölçü olduğu ve saptanabilecek düzeyde CMV CF antikorunun serumda 48 ay veya daha uzun bir süre bulunabileceği rapor edilmiştir (19,20,21). CF testinde, CMV antijeni ile kızamık, toksoplazma, influenza, parainfluenza, kabakulak, adenovirus antijenleri ve HBsAg arasında çapraz reaksiyon bulunmadığı bildirilmiştir (22).

Kaynar ve Durusu (23), CMV hepatit tanısı konan 5 hastada CMV CF titrelerinin 4.haftadan sonra yükselme gösterdiğini ve serumda 178 hafta varlığını sürdürdüğünü ve 204 haftaya kadar bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Kaynar ve Cengiz (24), 18-31 yaş grubunda 46 gebe ve 18-50 yaş grubunda 40 gebe olmayan sağlıklı kadında, mikrotiter kompleman fiksasyon yöntemini uygulamışlar, bu gebelerden 42'sinde (%91) CMV CF antikorunu bulunurken, 4'ünde (%9) bu antikorlara rastlamamışlardır. CMV CF antikor titresinin gebeliğin 2. ve 3. dönemlerinde daha yüksek olduğuna ve çalışma grubundaki olgulardan birinin, önceki dönemlerde 3 düşük yaptığına işaret edilmiştir. Gebe olmayan grubun 28'inde (%70) CMV CF antikorunu saptanmış ve 12'sinde (%30) CMV CF antikorunu bulunamamıştır. Bu antikorlar, virus çıkarımını engelleyici etki göstermemekte ve titresini ile prevalansının gebelerde, gebe olmayanlara göre daha yüksek olduğu vurgulanmaktadır. Bu bulgu $p < 0.05$ değeri ile, istatistiksel bakımdan da anlamlı bulunmuştur. Kaynar ve Cengiz (25)'in konu ile ilgili başka bir çalışmasında 60 anne ve 60 kordon serumu olmak üzere toplam 120 serumda CMV CF antikorları aranmıştır. Sağlıklı, herhangi bir anomali göstermeyen 60 kordon serumunun 46'sında (%76) antikor bulunmuş, 14 kordon serumunda (%24) negatiflik belirlenmiştir. Bu olgulardan 8'inin anne CMV CF titresini pozitif, 6'sının ise negatif bulunmuştur. 19-35 yaş grubunda, miadında, normal doğum yapan 60 annenin 54'ünde (%90), CMV CF antikorları tespit edilmiştir.

Özbal ve ark (6), 87 anne ve 60 yenidoğan bebek serumunda CMV CF testi ile antikor aramışlar,

annelerin 14/87 (%16)'sında pozitiflik, 73/87 (%84)'ünde negatiflik, bebeklerin 12/60 (%20)'sinde pozitiflik, 48/60 (%80)'ünde negatiflik saptamışlardır. Brandt ve ark (12), CMV CF'nin duyarısız bir yöntem olduğunu açıklamışlardır. Ancak Brooth (11) ve Griffith (13) ise CMV CF ile küçük miktardaki antikor ölçümlerinin yapılabileceğini ve spesifik IgG antikorlarının belirlenebileceğini ifade etmişlerdir. Buna karşın CMV CF, IgM tayini için olumsuz sonuçlar vermektedir. CMV spesifik IgM tayini yakında geçirilmiş ya da aktif infeksiyonu göstermektedir. IgM plasentayı geçemediği için, yenidoğanda tek pozitif sonuç tanı koydurucudur. Ancak yenidoğanda IgM üretimi olmayabilir ya da gecikebilir. IgM üretimi hem primer infeksiyonda, hem de reaktivasyonda oluşabilir. Primer infeksiyonu takiben uzun süre pozitif kalabilir. Epstein-Barr virus ile infeksiyonda da yalancı pozitiflik söz konusu olabilir (9,10).

CMV CF titresini, aynı serumun ELISA, IFA ve indirek hemagglütinasyon titrelerinden daha düşük çıkmakta, CMV antikorlarının araştırılmasında uygun bir yöntem olmasına karşılık, duyarlılık düzeyinin düşük olduğuna işaret edilmektedir. Buna karşılık, bir grup araştırmacı, CMV infeksiyonunun serolojik tanısında, seroepidemiolojik araştırmalarda CMV CF testinin çabuk ve güvenilir bir test olduğunu kabul etmişlerdir (26,27).

Peker ve ark (28), 20 prostat kanserli hastanın 16'sında (%80), 20 benign prostat hipertrofili hastanın 19'unda (%95) ve 20 kontrol grubundan 15'inde (%75) CMV CF antikorlarını 1/6 titrede bulmuşlar ve $p > 0.05$ ile gruplar arasında istatistiksel fark gözleyememişlerdir.

CMV AD₁₆₉ suşu ile yapılan CMV CF testi ile ELISA yöntemi arasında %84.4 oranında bir uyumluluk gözlenmiştir (5). Willand ve ark (29), 23 serum örneğindeki CMV CF ve ELISA IgG yöntemi arasındaki uyumluluk oranını %82.7 olarak açıklamışlardır.

CMV CF testi yaygın olarak kullanılmış olmasına karşın, duyarlılığı kesin olarak belirgin değildir ve az miktardaki antikorları tam olarak gösterememekte, sadece IgG varlığına işaret etmekte ancak, IgM'i ortaya koyamamaktadır (30). CF titreleri, ELISA, IFA ve indirek hemagglütinasyon titrelerine göre daima düşük düzeyler içinde bulunmaktadır (11).

IFA testi ile, IgG dışındaki antikor grupları da saptanabilmektedir. Oldukça duyarlı ve spesifik bir testtir. Bu testte IgG'ler floresan izotiyosiyanat veya rodamin ile konjuge edilerek, bu maddelerin UV ışınlarıyla floresans vermesinden faydalanılır. Antijen olarak da

virusla infekte hücreler kullanılır. IFA testinin CMV CF testinden daha duyarlı olduğu ve kanda CMV antikorlarının araştırılmasında kullanılabileceği açıklanmıştır (1,31-34).

RIA yöntemi de serum immunglobülinlerinin ölçülmesi için kullanılan bir indirek solid-phase immunassaydır. RIA ile özgül CMV IgM antikorlarının araştırılması tanı için değer taşımaktadır. Bu yöntemde spesifik antijen-antikor reaksiyonu radionucleotide-konjuge bir antiglobulin kullanılarak meydana çıkarılmaktadır. Duyarlı ve spesifik bir testtir (1,35).

CMV infeksiyonlarının tanısında aynı zamanda indirek hemaglutinasyon, immunofloresans ve lateks aglutinasyon teknikleri de kullanılmıştır (3,32).

Bu açıklamalar CMV infeksiyonlarının tanısında tek bir yöntemin olmadığını ve çeşitli yöntemlerin uygulandığını göstermektedir. Son yıllarda ELISA, CMV antikorlarını tayinde diğer geleneksel yöntemlerin yerini almıştır. Ana avantajları arasında hızlı, duyarlı ve özgül oluşu vardır. IgG ve IgM tipi antikorları ayrı ayrı saptamak mümkündür. IgM cinsi antikorları saptamada, özgülüğü arttırmak için anti-human IgM kaplı ELISA geliştirilmiştir. ELISA'da rekombinan antijenlerin kullanımı ile duyarlılık artırılmaktadır. Özellikle bu tür kitlerin, bağışıklığı yetersiz olanlarda kullanıma girmesine çalışılmaktadır (9,36-39).

CMV infeksiyonlarının serolojik tanısında kullanılan testler, "teknik kolaylık", "okuma zamanı", "spesifik bir ekibe gereksinim gösterme" gibi kullanışlılık açılarından değerlendirildiğinde, her testin kendine göre avantaj ve dezavantajları olduğu izlenmektedir. CF testinin okuma zamanı 18 saat olup, sadece deneyimli personeller tarafından yürütüldüğünde, güvenilir bir yöntem olma özelliği göstermektedir. Testler teknik kolaylık ve okuma zamanı açısından karşılaştırıldığında, "IHA, ELISA, IFA ve CF" sıralaması elde edilmektedir. IHA aynı zamanda, özel ekibe gereksinim göstermemesi bakımından da uygun olarak gözükmektedir (40).

Bir test yönteminde en büyük zarar ve hata yalancı negatif sonuçlardan doğmaktadır. Önemli ölçüde yalancı negatif sonuç veren bir test, kan ya da organ vericileri yoluyla CMV infeksiyonunun naklinden sorumlu olabilir. Bu testler arasında IHA testinin en az yalancı negatif sonuç veren test olduğu gözlenmiştir. Alıcı için daha dikkatli olunması yönünde uyarıcı olan yalancı pozitif sonuçlar ise daha az önem taşımaktadır. Ancak verici sayısını en üst düzeye çıkarmak için yalancı pozitiflik oranlarını da en düşük düzeyde tutmak gerekmektedir. Yapılan karşılaştırma

çalışmalarında IFA'nın oldukça yüksek düzeyde (%32) yalancı pozitif sonuç verdiği izlenmiştir. IHA ise en düşük yalancı pozitiflik oranlarını vermiştir. IHA antikorları CMV infeksiyonlarında en önce ortaya çıkan antikor olma özelliğini göstermektedir. IHA aynı zamanda kısa okuma zamanı ve özel cihaz istememesi gibi nitelikleri nedeniyle uygun bir "tarama testi" olarak gözükmektedir (40).

Başka bir çalışmada da en duyarlı yöntemin ELISA ve en duyarsız yöntemin CF olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada tüm testler CF'den daha duyarlı bulunurken, ELISA, IFA ve IHA arasında olumlu bir uyumun varlığı gözlenmiştir (10).

Cengiz ve ark (41,42), ELISA ile yaptıkları çalışmalarında konjenital anomalili doğum yapan annelerin ve yenidoğanlarının serumlarında CMV IgG ve IgM antikorlarını aramışlardır. Anne serumlarında CMV IgG 136/177 (%76.8) ve IgM 44/177 (%24.8) oranlarında seropozitif bulunmuştur. Anne serumunda CMV IgG pozitif olan 38 olguda IgM de pozitif olarak saptanmıştır. Bu da CMV antikorlarının aktif infeksiyondan koruyamadığının işareti olarak değerlendirilmiştir. Kordon serumunda CMV IgG 116/136 (%85.3) pozitiflik oranı verirken, CMV IgM 30 olguda pozitif bulunmuştur. Anne infeksiyonunun yenidoğana geçiş oranı %68.1 olarak belirlenmiştir. Sağlıklı grup ile gebelik patolojisi olan grup arasında $p < 0.001$ düzeyinde anlamlılık gözlenmiştir. CMV IgG antikorlarının varlığına rağmen, reaktif veya yeni infeksiyonların gelişebilmesi, bu antikorların tam bir immünite geliştiremediğinin ve yeterli koruma sağlayamadığının bir bulgusu olarak değerlendirilmiştir.

Cengiz ve ark (43) bir başka çalışmalarında da normal bebek doğumu yapan anneler ile bebeklerinde ELISA ile CMV IgM aramışlar ve toplam 120 anneden 25'inin serumunda pozitiflik saptamışlardır. Bu 25 annenin 11'inin bebeğinin kordon serumunda da CMV IgM pozitifliği gözlenmiştir. Bu bulgu primer CMV infeksiyonunu göstermekle birlikte, bu annelerin sağlıklı doğum yaptıkları gözlenmiştir. Bununla birlikte gebelik ve infeksiyonlar konusunda CMV'nin önemli bir yeri olduğuna ve bu infeksiyonun gösterilmesinde ELISA yönteminin değerine dikkat çekilmiştir.

Viral hepatitli olgular ile bu olguların aile çevresindeki bireylerde CMV antikorları arayan çalışmalar da yapılmış ve yöntem olarak da ELISA seçilmiştir. Bu çalışmalarda viral hepatitli 200 olgudan 178'inin serumunda (%80.9) CMV IgG seropoziti-

tif olarak bulunmuştur. Bu olguların aile çevresindeki 240 bireyden 181'inde (%75.4) CMV IgG seropozitifliği saptanırken, bu oranın kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular viral hepatitli olgularda CMV enfeksiyonlarının da hatırlanmasının yararına işaret etmektedir (44,45).

Cengiz ve ark (46) bir diğer çalışmalarında, sterilite-infertilite sorunu olan 112 kadını incelemeye alarak, ELISA ile CMV IgG ve IgM antikorlarını aramışlardır. Bu olgularda %91.07 oranında CMV IgG, %8.03 oranında da CMV IgM pozitifliği elde etmişlerdir. Bu veriler ışığında genital enfeksiyonlarda CMV etkinliğine işaret ederek, steril-infertil olgularda değişik bakteriyel ve viral etkenler yanında CMV enfeksiyonlarının da düşünülmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Bir diğer çalışmada, lenfomalı ve lösemili olgularda viral ve bakteriyel enfeksiyonların mortalitede önemli bir etken olduğuna değinilerek, bu olgularda CMV enfeksiyonlarının önemi vurgulanmıştır. ELISA ile yapılan çalışmalar sonucunda, CMV IgG seropozitif olan lenfoma ve lösemili olgularda da CMV reaktivasyonunun varlığı ve CMV enfeksiyonlarının ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (47).

Cengiz ve ark (48), toplam 460 kan donörünün serumunda ELISA ile CMV IgG aramışlar ve 355 olguda (%72.8) pozitiflik bulmuşlardır. Seropozitif olguların kadın-erkek dağılımında fark izlenmezken, yaş grupları arasında istatistik olarak anlamlı fark bulunmuş, yaşın artmasıyla seropozitivitenin de arttığı gözlenmiştir.

Bu çalışmaların verilerinin de gösterdiği gibi ELISA geniş kapsamlı serolojik taramalar için ideal bir tanı yöntemi özelliğini taşımaktadır.

PCR da çeşitli klinik örneklerden CMV DNA'sını tayinde başarı ile kullanılmıştır. Bu yöntemde mikroorganizmanın genomunda bulunan spesifik parçalar büyük kitleler halinde kopyalanarak çoğaltılır. Daha sonra da değişik sistemler ile bu amplifiye ürünler idantifiye edilirler. Özellikle konjenital CMV enfeksiyonunun tanısında, hayatın ilk iki haftasında idrar, boğaz ve diğer vücut sıvılarından CMV eldesi, en duyarlı ve özgül tanı metodu olarak açıklanmıştır. Virus kültürü amacıyla idrar tercih edilirken, serumda da PCR ile CMV DNA'sının saptanışının hızlı, duyarlı ve spesifik bir yöntem olduğu

gösterilmiştir. Konjenital enfeksiyonun prenatal tanısında da PCR ile amniyotik sıvıda CMV DNA aranmaktadır (1,9,10,49,50).

Siritantikorn ve ark (51), infantlarda CMV enfeksiyonu tanısı için PCR, virus izolasyonu ve serolojik metodları karşılaştırmışlar ve PCR'ın en sensitif teknik olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma grubundaki infantların %29'unda CMV enfeksiyonu saptanırken, virus izolasyonu ile saptama oranı %17, spesifik IgM ELISA ile saptama oranı %15 olarak bulunmuştur. PCR'ın sensitivite ve spesifitesi izolasyon ve seroloji ile kıyaslandığında, sırasıyla %93 ve %96 oranları elde edilmiştir. PCR ile CMV DNA'nın idrar örneklerinde de saptanabileceği vurgulanmıştır.

Renal allograft alıcılarında da CMV enfeksiyonları hala morbidite ve mortalitenin önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Cunningham ve ark (52) renal transplant hastalarının serumlarında CMV saptamak amacıyla PCR tekniği kullanmışlar ve renal transplant hastalarındaki potansiyel CMV hastalığının erken endikasyonu için PCR'ın uygun bir metod olduğunu belirtmişlerdir. CMV enfeksiyonlarının rutin tanısında PCR kullanımı henüz kesinlik kazanmamış bir konudur. Aktif hastalık ile asemptomatik enfeksiyon ayırt edilebilir mi sorusuna cevap aranmaktadır. Seropozitif sağlıklı bireylerin periferik kan mononükleer hücrelerinde CMV tayin edilmiş ve buna göre pozitif PCR sonucunun aktif enfeksiyondan çok, seropozitivite ile korelasyon gösterdiği ileri sürülmüştür. Diğer araştırmacılar ise, kan, beyinomurilik sıvısı ve doku örneklerinde bağışık yetersizliği olan kişilerde CMV DNA'sı tayin edildiği zaman, bunun, klinik olarak önemli bir enfeksiyonun doğru tanısı için yüksek prediktif değer taşıyabileceğini ileri sürmektedirler. Bununla birlikte serum ve plazmada CMV DNA'sının PCR ile tayininin çok duyarlı bir yöntem olduğu ve latent enfeksiyona bağlı yalancı pozitifliğe yol açmadığı bildirilmiştir (9,53).

CMV enfeksiyonlarının tanısı esas olarak virusun veya virus komponentlerinin patolojik materyalde direk gösterilmesi veya indirek olarak seroloji ile mümkündür. Serolojik tanı virus varlığının indirek göstergesi olmasına rağmen, seroloji diğer tanı testlerinden ucuzdur, kısa sürede sonuç verir ve güvenlidir (54).

KAYNAKLAR

1. Akan E. Genel ve Özel Viroloji 3. baskı Saray Yayınevi, İzmir 1994 s:229.
2. Sterr JG. Cytomegalovirus. *Ped Clin North Am* 1979; 26: 283.
3. Bitirgen M, Çiftçi D, Polat H ve ark. Böbrek transplant alıcılarında ve hemodiyaliz uygulanan kronik böbrek hastalında Cytomegalovirus antikorlarının araştırılması. *Mikrobiyol bült* 1995; 29(3):265.
4. Kanra G, Yurdakök M, Çakır S. Sitomegalovirus enfeksiyonu. *Katkı Pediatri Dergisi* 1988; 9(4):341.
5. Saify SJ, Ustaçelebi Ş, Haberal M. Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda kompleman birleşmesi ve ELISA yöntemi ile sitomegalovirus antikor düzeyinin saptanması. *Mikrobiyol Bült* 1986; 20:256.
6. Özbal Y, Dönmez M, Kurtoğlu S, Kılıç H. Genç anne ve bebeklerinde kabakulak ve sitomegalovirus antikor bulguları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1987; 17(3-4):200.
7. Ustaçelebi Ş, Köksal I, Cantürk H ve ark. Hamilelikte TORCH etkenlerine karşı antikorların saptanması. *Mikrobiyol Bült* 1986; 20:1.
8. Peece PM, Pearl KW, Peckham CS. Congenital Cytomegalovirus infections. *Arch Dis Child* 1984; 59:1120.
9. Hodinka RL, Friedman HM. Human Cytomegalovirus. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds) 8th ed. American Society for Microbiology Press, Washington DC 1995: pp:884.
10. Britt WJ, Alfort JA. Cytomegalovirus. In: *Fields Virology*. Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds) 3th ed. Lippincott Raven Publishers, Philadelphia 1996: pp:2493.
11. Brooth JC, Hannington G, Aziz TAB, Stern H. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, complement fixation, anti-complement immunofluorescence and passive haemagglutination techniques for detecting cytomegalovirus IgG antibody. *J Clin Pathol* 1979; 32:122.
12. Brandt JA, Kettering JD, Lewis JE. Immunity of human cytomegalovirus measured and compared by complement fixation, indirect fluorescent antibody, indirect haemagglutination and enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1984; 19(2):147.
13. Griffiths PD, Buie KJ, Heath RB. A comparison of complement fixation, indirect immunofluorescence test for the detection of cytomegalovirus specific serum antibodies. *J Clin Pathol* 1978; 31:827.
14. Mc Hugh TM, Casavant CH. Comparison of six methods for the detection of antibody to cytomegalovirus. *J Clin Microbiol* 1985; 22:1014.
15. Phlipps PH, Gregore L, Rossier E, Perry O. Comparison of five methods of cytomegalovirus antibody screening of blood donors. *J Clin Microbiol* 1983; 18:1296.
16. Peiris TC, Taylor CE, Main J et al. Diagnosis of cytomegalovirus (CMV) disease in renal allograft recipients: the role of semiquantitative polymerase chain reaction (PCR). *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10(7):1198.
17. Monif GR, Egan EA. The correlation of maternal cytomegalovirus infection during varying stages in gestation with neonatal involvement. *J Pediatr* 1972; 80:17.
18. Dylewski JS, Rassmussen L, Mills J, Merigan TC. Large scale serological screening for cytomegalovirus antibodies in homosexual males by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1984; 19(2):200.
19. Reynolds DW, Stagno S, Hosty TS et al. Maternal cytomegalovirus excretion and perinatal infection. *N Engl J Med* 1973; 289:1.
20. Prince AM, Szmunes W. A serologic study of cytomegalovirus infectious associated with blood transfusions. *N Engl J Med* 1971; 284:1125.
21. Stagno S. Cervical cytomegalovirus excretion in pregnant and non-pregnant women. *J Infect Dis* 1975; 131:522.
22. Purcell RH, Wolsh JH, Holland PV et al. Seroepidemiological studies of transfusion associated hepatitis. *J Infect Dis* 1971;123:409.
23. Kaynar V, Durusu Z. Cytomegalovirus kompleman fikse eden antikorun serumda bulunma süresi. *Mikrobiyol Bült* 1981; 15:31.
24. Kaynar V, Cengiz L. Cytomegalovirus kompleman fikse eden antikorun gebelik dönemlerindeki durumu. *Türk Viroloji Dergisi* 1980; 2:13.
25. Kaynar V, Cengiz L. Yenidoğan çocuklarla annelerinin kanında Cytomegalovirus kompleman fikse eden antikorları. *Mikrobiyol Bült* 1981; 15:35.
26. Langenhuisen MMAC. Antibodies against gammaglobulin after blood transfusion and cytomegalovirus infection. *Clin Exp Immunol* 1971; 9:993.
27. Spencer ES, Andersen H. The development of immunofluorescent antibodies as compared with complement fixing and virus neutralizing antibodies in human cytomegalovirus infection. *Scand J Infect Dis* 1972; 4:109.
28. Peker AF, Erkan İ, Özen HA ve ark. Prostatın benign ve malign büyümelerinde serum sitomegalovirus, Herpes simpleks tip I ve adenovirus antikor düzeyleri. *Mikrobiyol Bült* 1986; 20:165.
29. Willand F, Scherders J, Hooljmans A, Dagehicky C. Development and preliminary evaluation of two Elisa's for detection of anti-CMV IgG and IgM antibodies. *J Virol Methods* 1985; 10:363.
30. Horodniccanu F, Michelson S. Assesment of human cytomegalovirus antibody detection techniques. *Arch Virol* 1980; 64:287.

31. Sever JL. TORCH tests and what they mean? *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152(5):495.
32. Benson JWT, Bedden SJ, Tobin J. Cytomegalovirus and blood transfusion in neonates. *Arch Dis Child* 1979; 54:538.
33. Beets RF, George SD, Rundell BB et al. Comperative activity of immunofluorescent antibody and complement fixing antibody in cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1976; 4:151.
34. De Silva LM, Kampfner FL, Lister CM, Tobin JD. Identification of pregnancies at risk from cytomegalovirus infection. *J Hygiene* 1977; 79:347.
35. Hanshaw JB, Dudgeon JA. Congenital cytomegalovirus. Major problems in clinical. *Pediatrics* 1978; 17:97.
36. Landini MP. New approaches and perspectives in cytomegalovirus diagnosis. *Prog Med Virol* 1993; 40:157.
37. Landini MP, Lazzarotto T, Maine GT et al. Recombinant mono and polyantigens to detect CMV-specific IgM by enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2535.
38. Chou S, Kim DY, Scott KM, Sewell DL. Immunoglobulin M to cytomegalovirus in primary and reactivation in infections in renal transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1987; 25:52.
39. Dremmler GJ, Six HR, Hurst SM, Yow MD. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgM class antibodies to cytomegalovirus. *J Infect Dis* 1986; 153(6):1152.
40. Booth JC, Hannington G, Bakir TMF et al. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, radioimmunoassay, complement fixation, anticomplement immunofluorescence and passive haemagglutination techniques for detecting cytomegalovirus IgG antibody. *J Clin Pathol* 1982; 35:1345.
41. Cengiz AT, Kıyan M, Cengiz L, Uğurel MŞ. Düşük veya ölü doğum yapma, prematürite gibi obstetrikle ilgili sorunları bulunan ve konjenital anomalili doğum yapan annelerin ve yenidoğanların serumlarında ELISA ile cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının araştırılması. *T Klin Jinekoloj Obst* 1993; 3:98.
42. Cengiz AT, Cengiz L, Kıyan M, Uğurel MŞ. Cytomegalovirus (CMV) IgM pozitif seropozitif anne ve yenidoğanda klinik bulguların özellikleri. *T Klin Jinekoloj Obst* 1993; 3:105.
43. Cengiz AT, Cengiz L, Kıyan M ve ark. Normal bebek doğumu yapan annenin serumunda ve bebeğin kordon serumunda CMV IgM antikorlarının varlığı. *Türk Mikrobiyoloj Cem Derg* 1991; 21(1):55.
44. Cengiz AT, Kıyan M, Yavaşoğlu O ve ark. Viral hepatitli olguların serumunda ELISA ile CMV IgG'nin araştırılması. *Karadeniz Tıp Dergisi* 1993; 7:1.
45. Cengiz AT, Kıyan M, Göktaş P ve ark. Viral hepatitli olguların aile çevresindeki kişilerde Cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM antikorlarının araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 1992; 6(3):169.
46. Cengiz AT, Kıyan M, Cengiz L ve ark. Steril-infertil kadınların serumunda Cytomegalovirus (CMV) IgG ve IgM'in ELISA ile gösterilmesi. *İnfeksiyon Derg* 1993; 7(3-4):239.
47. Cengiz AT, Uysal VA, Ataoğlu H, Kıyan M. Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomanın bir grup hastada ve lösemili olgularda serum Cytomegalovirus (CMV) IgM ve IgG'nin ELISA ile araştırılması. *İnfeksiyon Derg* 1993; 7(3-4):243.
48. Cengiz AT, Ataoğlu H, Anter U. Sitomegalovirus IgG antikorlarının ELISA ile kan donörleri serumunda gösterilmesi. *İnfeksiyon Derg* 1990; 4(4):609.
49. Nelson Ct, Istaş AS, Wilkerson MK. PCR detection of CMV DNA in serum as a diagnostic test for congenital CMV infection. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3317.
50. Weber B, Opp M, Born HJ et al: Laboratory diagnosis of congenital cytomegalovirus infection using polymerase chain reaction and shell vial culture. *Infection* 1992; 3:155.
51. Siritantikorn S, Nantharukc S, Chavalidthamrong P et al. Detection of human cytomegalovirus in urine of infants by polymerase chain reaction. *J Med Assoc Thai* 1994; 77(8):414.
52. Cunningham R, Harris A, Frankton A, Irving W. Detection of cytomegalovirus using PCR in serum from renal transplant recipients. *J Clin Pathol* 1995; 48(6):575.
53. Espy MJ, Smith TF. Comparison of sharp signal system and southern blot hibridization for detection of CMV in clinical specimen by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3028.
54. Landini MP, Mach M. Searching for antibodies specific for human cytomegalovirus: Is it diagnostically useful? When and how? *Scand J Infect Dis Suppl* 1995; 99:18.