

NERGİZ İMAMOVA

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2017



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARKLI HASTA GRUPLARINDA SİTOMEGALOVİRUS
GENOTİPLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

NERGİZ İMAMOVA

**DANIŞMAN
PROF.DR. KENAN MİDİLLİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

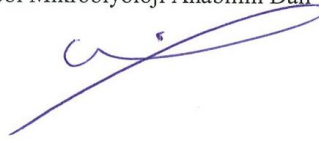
İSTANBUL-2017

TEZ ONAYI**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programında Yüksek Lisans öğrencisi Nergiz IMAMOVA tarafından Prof.Dr.Kenan MİDİLLİ'nin danışmanlığında hazırlanan "Farklı Hasta Gruplarında Sitomegalovirus Genotiplerinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 15 /06 /2017 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

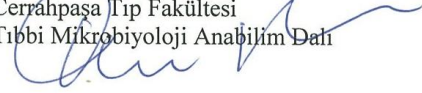
Prof.Dr. Gökhan AYGÜN
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri-Danışman**

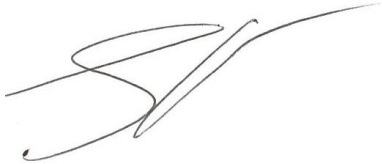
Prof.Dr. Kenan MİDİLLİ
İstanbul Üniversitesi,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

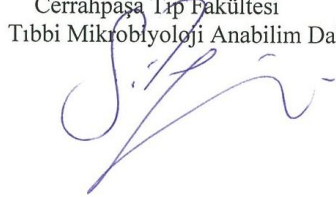
Prof.Dr.Ömer KÜÇÜKBASMACI
İstanbul Üniversitesi,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Doç.Dr.Füsün CAN
Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Doç.Dr.Sevgi ERGİN
İstanbul Üniversitesi,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Nergiz İmamova

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Eğitimim ve öğrenimim süresince bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden itibaren derin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin planlanması, yürütülmesi ve yönlendirilmesinde yardımcı olan, akademik desteği dışında manevi desteği, sabrı ve anlayışı için değerli hocam Sayın Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye

Eğitimim süresince çok emekleri geçen hocalarımız Sayın Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK, Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Hrisi BAHAR TOKMAN, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Doç. Dr. Sevgi ERGİN, Doç. Dr. Mustafa ASLAN, Doç. Dr. Suat SARIBAŞ, Doç. Dr. Erdal POLAT'a

Tezimin her aşamasında göstermiş olduğu destek ve yardımları için Phd. Mert Ahmet KUŞKUCUYA'ya

İlgi ve destekleri ile her zaman yanımda olan çok sevgili arkadaşlarım Msc. Harika Öykü DİNÇ, Msc. Zeynep TANER, Msc. Yağmur Eylül DOĞANTÜRK, Msc. Esra DEMİR, Okan AYDOĞAN ve Phd. Asiye KARAKULLUKÇU'ya

Destekleri için değerli asistanlarımız Dr. Hikmet Nilşen GÜNEY, Dr. Taner Tahir KİRAZOĞLU ve Dr. Elvin YILDIRIM'a

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Muhammet AYDIN ve Pınar KOÇOĞLU'na

Destek ve yardımları için sevgili Nida KÜÇÜK AYDIN, Nuray KÜRK, Tuba SOYSAL, Mustafa KIRKAN, Orhan YATMAZ, Nihat DOĞAN, Yılmaz TAŞDEMİR ve diğer mikrobiyoloji çalışanlarına

ve her zaman yanımda olan sevgili aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 51977

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Cytomegalovirus (CMV)	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Sınıflandırma.....	4
2.1.3. Virusun yapısı	5
2.1.3.1. Kapsid	6
2.1.3.2. Tegument.....	7
2.1.3.3. Zarf.....	10
2.2. Viral Genom.....	11
2.3. Viral Replikasyon	12
2.4. Epidemiyoloji ve Bulaşma Yolları.....	13
2.5. Patogenez ve İmmünite.....	14
2.5.1. İmmun Sistemi Baskılanmamış Konak.....	14
2.5.2. İmmun Yetmezliği Olan Hastalar	15
2.5.3. Konjenital ve Perinatal İnfeksiyonlar	16
2.6. Klinik Bulgular	16
2.6.1. İmmun Sistemi Baskılanmamış Konak.....	16
2.6.2. Konjenital İnfeksiyonlar	17
2.6.3. İmmun Yetmezliği Olan Hastalar	18

2.7. Genotiplendirme	19
2.8. Tanı	21
2.8.1. Direkt İnceleme.....	22
2.8.2. Virusun İzolasyonu	24
2.8.3. Serolojik yöntemler.....	25
2.9. Korunma	26
2.10. Tedavi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereçler.....	29
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Aletler	29
3.1.2. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri.....	29
3.1.3. Kullanılan Yazılımlar.....	30
3.2. Örneklerin Toplanması	30
3.3. Örneklerden Nükleik Asit Saflaştırılması.....	31
3.4. CMV gB Gen Bölgesinin Nested PCR Yöntemi ile Çoğaltılması.....	31
3.5. DNA Dizi Analizi	34
3.6. İstatiksel analiz:	38
4. BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA	46
KAYNAKLAR	57
HAM VERİLER	77
ETİK KURUL KARARI	102
ÖZGEÇMİŞ	103

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: CMV tegument proteinleri	9
Tablo 3-1: Nested PCR ve DNA Dizi Analizi için kullanılan primerler	32
Tablo 3-2: Nested PCR - Birinci Aşama Bileşenleri	32
Tablo 3-3: Nested PCR - Birinci ve İkinci Aşama PCR Programı	33
Tablo 3-4: Nested PCR - İkinci Aşama Bileşenleri	34
Tablo 3-5: DNA Dizi Analizi için Kullanılan Karışımı	35
Tablo 3-6:Döngüsel Dizileme Reaksiyonları PCR Programı	36
Tablo 4-1: Hastalara ait demografik veriler.....	39
Tablo 4-2: Hastalarda gB genotip dağılımı (n=46).....	40
Tablo 4-3: Örneklerdeki genotip dağılımı (n=49)	42
Tablo 4-4: Örnek türlerine göre genotip dağılımı.....	43
Tablo 4-5: Klinik örneklerin hasta grubuna göre dağılımı (n=49)	44
Tablo 4-6:Genotiplerin hasta tanılarına göre dağılımı.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: CMV'nin morfolojik yapısı.....	6
Şekil 2-2: CMV DNA genomunun organizasyonu.....	11
Şekil 3-1:DNA Star SeqManII programında çift yönlü eşleştirme.....	37
Şekil 3-2: ClustalW Multiple alignent yazılımı ile yapılan hizalama.....	37
Şekil 4-1: Filogenetik analiz	42



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AD	: Antijenik determinant
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
AKİT	: Allojenik kemik iliği transplantasyonu
ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AML	: Akut Myeloid Lösemi
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
bp	: Base pair
BPP	: Basic phosphoprotein
CMV	: Cytomegalovirus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotitfosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGFR	: Epidermal growth factor receptor
EIA	: Enzyme Immun Assay
EM	: Elektron mikroskopu
gB	: Glikoprotein B
Gİ	: Gastrointestinal
GVHH	: Graft versus host hastalığı
HHV	: Human Herpes Virus
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HMA	: Heteroduplex mobility assay
HMWP	: High-molecular-weight protein
Ig	: İmmunoglobulin
IL	: İnterlökin
IRL	: Inverted repeat short
İFA	: İmmun Floresan Antikor
Kb	: Kilo baz
KBY	: Kronik Böbrek Yetmezliği
KİT	: Kemik İliği Transplantasyonu
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi

LM	: Lower Matrix Protein
mC-BP	: Minor Capsid Binding Protein
mCP	: Minor Capsid Protein
MCP	: Major Capsid Protein
MGB	: Minor-groove binding
MHC	: Major histocompatibility complex
mL	: Mililitre
NASBA	: Nucleic-acid-sequence-based amplification
NIEPs	: Noninfectious Enveloped Particles
NK	: Natural killer
NNL	: Non-Hodgkin Lenfoma
ORF	: Open reading frames
pAP	: Assembly Protein Precursor
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PDGFR	: Platelet-derived growth factor receptor
pNP1	: Proteinase Precursor
PTLD	: Posttransplant lymphoproliferative disease
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	: Ribonükleik asit
Rpm	: Rotation per minute
SCP	: Smallest Capsid Protein
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOT	: Solid Organ Transplantasyonu
SSCP	: Single-strand conformation polymorphism
SSS	: Santral sinir sistemi
TH	: T helper
TLR	: Toll like receptor
TRL	: Terminal repeat short
UL	: Unique Long
UM	: Upper-matrix protein
US	: Unique Short
µL	: mikrolitre

ÖZET

İmamova, N. (2016). Farklı hasta gruplarında Sitomegalovirus genotiplerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Çalışmamızda farklı hasta gruplarından elde edilen farklı klinik örneklerde CMV glikoprotein B (gB) genotiplerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nin poliklinik ve servislerinde takip edilen ve CMV DNA'sı pozitif bulunan 46 hasta dahil edildi (21 kadın, 25 erkek; yaş aralığı 0-71, yaş ortalaması $34,29 \pm 20,22$). Hastalara ait 49 örnekte CMV gB genotipleri çalışıldı. Hastalar transplant alıcıları, konjenital enfeksiyon ve “diğer” olmak üzere üç ana gruba ayrıldı.

Genotiplendirme işleminde gB bölgesine ait PCR ürünlerinin DNA dizileri kullanıldı.

Klinik örneklerin 25'inde gB1 (%51,03), 14'ünde gB2 (%28,57), 5'inde gB3 (%10,2) ve 5'inde gB4 (%10,2) bulundu. Karışık genotip saptanmadı.

Örnek türlerine göre genotip dağılımında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$). Hasta tanı gruplarına göre genotip dağılımı; transplant alıcılarında (KİT+SOT) ($n=23$) gB1 %30,5, gB2 %39,1, gB3 %13, gB4 %17,4, konjenital CMV tanı grubunda ($n=9$) gB1 %66,7, gB2 %22,2, gB3 %11,1, gB4 %0 ve “diğer” hasta grubunda ($n=17$) gB1 %70,6, gB2 %17,6, gB3 %5,9, gB4 %5,9 olarak saptandı. Genotip dağılımı transplant alıcıları ile konjenital enfeksiyon tanı grubu arasında istatistiksel açıdan farklı değildi. gB1 “diğer” hasta grubunda transplantasyon alıcılarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksekti (sırası ile %70,59'a karşın %30,43, $p=0,02$).

Çalışmaya dahil edilen hastalarda en sık genotip gB1 saptandı. Hastalardan birinde ilk gelen örnekte gB1 saptanırken, ikinci örnekte gB2 bulundu. Bu durum farklı genotip ile reenfeksiyon oluşabileceğini göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar, gB proteinin immunolojik yanıt açısından baskın rolünden dolayı gB genotiplerinin immunopatogenez ve klinik seyir üzerinde belirleyici bir role sahip olabileceğini ve konağın bağışıklık sisteminin durumuna bağlı olarak farklı dağılımlar gösterebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sitomegalovirus, genotip, glikoprotein B, nested PCR, DNA dizi analizi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 51977



ABSTRACT

İmamova, N. (2016). Investigation of distribution of CMV genotypes in different patient groups. Istanbul. University, Institute of Health Science, Department of Medical Microbiology, Master thesis, Istanbul

The aim of our study was to investigate the CMV glycoprotein B (gB) genotypes in different clinical samples of different patient groups.

Forty six patients (21 female, 25 male, aged between 0-71, mean age $34,29 \pm 20,22$). who were referred to our laboratory from different clinics of Cerrahpaşa Medical Faculty of Istanbul University and found positive for CMV DNA were included to the study. CMV genotypes were determined in total 49 samples of 46 patients. Patients were categorised into three groups as transplant recipients, congenital infection and others.

Genotyping was based on sequencing of partial sequencing of gB gene region. gB1 (51.03%) was found in 25 clinical samples; gB2 (28.57%) in 14, gB3 (10.2%) in 5 and gB4 (10.2%) in 5. No mixed genotype was found in any sample.

The distribution of CMV genotypes according to sample types was not different. The distribution of CMV genotypes according to patient diagnosis groups was as following: in transplant recipients (n=23) gB1 30.5%, gB2 39.1%, gB3 13%, gB4 17.4%, in congenital infection group (n=9) gB1 66.7%, gB2 22.2%, gB3 11.1%, gB4 0% and in “others” group (n=17) gB1 70.6%, gB2 17.6%, gB3 5.9%, gB4 5.9%. The distribution of genotypes in transplant recipients and congenital infection groups were similar but gB1 was a significantly more prevalent in “others” group compared to transplant recipients (70.59% vs.30.43% , respectively, $p=0.02$).

gB1 was the most frequently genotype. Two samples from the same patient obtained in different occasions harbored genotype gB1 and gB2 suggesting reinfection.

Considering the dominant role of gB protein regarding the host immune response, our results support that the gB genotypes may be critical in immunopathogenesis and clinical course of infection and may differently distributed in different patient groups according to the immune status of the host.

Key Words: Cytomegalovirus, genotype, glycoprotein B, nested PCR, DNA sequence analysis

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 51977



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Herpesviridae ailesinin *Betaherpesvirinae* alt ailesinden Cytomegalavirus (CMV) cinsi içinde yer alan Human herpesvirus 5, sağlıklı kişilerde çoğunlukla asemptomatik infeksiyonlara yol açan yaygın bir virustur. Gelişmekte olan ülkelerde erişkinler arasında seropozitiflik oranı %90'ların üzerine çıkmaktadır. Bazı durumlarda mononukleoz benzeri sendromlara neden olabilir (Mazzulli ve ark. 1999; Melnik ve ark. 2011). Bununla birlikte CMV infeksiyonları özellikle transplant alıcıları olmak üzere bağışıklık sorunu olan kişilerde ciddi klinik sonuçlara yol açabilmektedir. İntrauterin ya da sütçocukluğu çağında edinilen CMV infeksiyonları hastaların önemli bir kısmında ciddi sekellere neden olmaktadır (Bale ve ark. 2000; Leung ve ark. 2003; Malm ve Engman 2007; Engman 2008;).

Virus tükürük, semen, servikal ve vajinal sekresyonlar, kan ürünleri, transplante organlar, göz yaşı, idrar ve anne sütünden izole edilmiştir (Malm ve Engman 2007; Nassetta ve ark. 2009). İnfeksiyonun bulaşma yolları yakın temas (tükürük ve idrar gibi vücut sıvıları ile), cinsel ilişki, emzirme, kan transfüzyonu ve organ transplantasyonudur (Colugnati ve ark. 2007; Nassikas ve Tsaples 2013). En tehlikeli bulaşma yollarından bir diğeri ise etkenin anneden bebeğe vertikal yolla bulaşmasıdır (Nassikas ve Tsaples 2013).

CMV infeksiyonunda hem konak hem de virusa ait faktörler önemli rol oynar. Virus genomunun çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan genetik varyasyonların virulansı etkilediği düşünülmektedir (Paradowska ve ark. 2015). CMV genomu 236 kb uzunluğundadır ve 60'dan fazla (gliko) protein kodlamaktadır. UL55 gen bölgesi tarafından kodlanan glikoprotein B (gB) major zarf glikoproteinidir ve virusun konak hücreye tutunmasını, hücreden hücreye transferini ve infekte hücrelerin füzyonunu sağlar (Sarcinella ve ark. 2002; Pang ve ark. 2008). Aynı zamanda hem hücresel hem de humoral yanıtın hedefidir. Bu yüzden gB bölgesindeki genetik varyasyonlar hastalığın klinik seyrini, virusun hücre tropizmini ve patogenezi etkileyebilir (Tarrago ve ark. 2003; Pang ve ark. 2008).

CMV suşlarında dört farklı gB genotipi (gB1-4) saptanmıştır. gB5 genotipi nadirdir (Shepp ve ark.1996). gB6 ve gB7 genotipi ise çocuk hastalarda RFLP yöntemi ile gösterilmiştir (Trincado ve ark. 2000). Genotip analiz çalışmalarında gB genotip

dağılımının coğrafik veya demografik farklılık gösterdiği bildirilmiştir (*Sahiner ve ark. 2015; Paradowska ve ark. 2015*).

Konjenital CMV enfeksiyonu ile ilgili gB genotiplendirme çalışmalarında Avrupa ülkelerinde gB1 genotipi dominant olarak bulunmuştur. Meksika ve Brezilya’da ise doğurganlık çağındaki kadınlarda gB2 daha fazla saptanmıştır. HIV ile enfekte hastalarda gB2 ile retinit arasında ilişki olduğunu ve bu genotipin retinopatik özelliğinin araştırılması gerektiğini bildiren çalışmalar vardır. SOT alıcılarında en fazla gB1 saptanmıştır. CMV hastalığı gelişen KİT hastalarında gB2 genotipi daha yaygın olarak bulunmuştur. gB3 ve gB4 bulunan kemik iliği baskılanmış olgularda mortalite oranının yüksek olduğu bildirilmiştir. gB3 genotipinin CMV pnömonisi için risk faktörü oluşturabileceğine dair bulgular mevcuttur. Ayrıca gB3’le enfekte hastalarda antiretroviral tedavi sırasında daha yüksek viral yük görüldüğü, bu genotipin CMV hastalığı gelişimi ve düşük sağ kalım oranlarıyla bağlantılı bulunması ile diğer genotiplerden farklı olduğu bildirilmiştir (*Diemant ve ark. 2013*). Karışık genotip bulunan hastalarda CMV hastalığının seyrinin ağır olduğu, greft rejeksiyon oranının arttığı ve viral yükün daha yüksek olduğu, ancak tedavinin ilk günlerinde diğer genotiplere göre daha çabuk düştüğü, ayrıca gB1’in tedaviye daha geç yanıt verdiği bildirilmiştir (*Sarcinella ve ark. 2002; Emery 2001*).

Bu çalışmada da Anabilim Dalı Laboratuvarı’na gönderilen farklı klinik örneklerde saptanan CMV’lerin gB tiplerinin belirlenmesi ve klinik örnekler arasında genotip dağılımı açısından farklılıklarının olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Cytomegalovirus (CMV)

Sitomegalovirus (CMV), *Herpesviridae* ailesinin bir üyesi olarak, her yaşta görülebilen, bütün dünyada yaygın bir infeksiyon etkenidir ve konakta yaşam boyu süren latent infeksiyonlara neden olur. Sağlıklı bireylerde genellikle asemptomatik olarak seyretmesine rağmen, bağışıklığı baskılanmış bireylerde daha çok fırsatçı patojen olarak ortaya çıkmaktadır. CMV aynı zamanda en sık rastlanan konjenital viral infeksiyon etkenidir. Çocuklarda mental retardasyon, mikrosefali, hareket bozuklukları, epilepsi, sensörinöral işitme kaybı (tek veya çift taraflı), koriyoretinit veya diğer görme bozuklukları en fazla görülen nörolojik belirtilerdir (Jones 2003; Biron 2006).

2.1.1. Tarihçe

İlk kez Alman bilim adamı Ribbert tarafından 1881’de ölü doğan bebeklerin böbreklerinde dev hücrelerin görülmesi ile dikkati çekmiştir. Daha sonra aynı hücrelere 8 aylık fetusun böbrek, karaciğer ve akciğerinde de rastlanmış, “protozoon benzeri” hücreler olarak tanımlanmıştır. Lowenstein Ribbert’in laboratuvarında çalışırken 30 sütçocuğunun 4’ünün parotis bezinde benzer hücreleri gördüğünü bildirmiş, böylelikle, intranükleer inklüzyonlar içeren tipik sitomegalik hücrelerin tanımı ilk kez yapılmıştır. Von Glahn ve Pappenheimer genital herpes ve herpes zoster ile infekte olan bir hastanın lezyonunda yine bu tip hücrelere rastlamış, buradan anormal hücrelerin belirli bir virus grubu ile ilişkili olduğu fikri ortaya çıkmıştır. Farber ve Wolbach farklı nedenlerden ölen 183 çocuktan 26’sının tükürük bezlerinde inklüzyon cisimcikleri içeren hücreler bulmuş ve bu sitomegalovirus infeksiyonunun son derece yaygın olabileceğine ilişkin ilk kez doğru bir yaklaşım oluşturmuştur. Goodpasture ve Talbert 1921’de, ilk kez etken için “cytomegalia” kelimesini kullanmıştır (Riley 1997). 1932’de 25 letal konjenital infeksiyon olgusunda peteşi, hepatosplenomegali ve intraserebral kalsifikasyonların olduğu gösterilmiş ve hepsinin tipik intranükleer inklüzyon cisimciklerine sahip olduğu bildirilmiştir. Wyatt, o zamanlar etyolojisi daha bilinmediği halde, hastalığın

ismini “sitomegalik inklüzyon hastalığı (Cytomegalic Inclusion Disease-CID)” olarak önermiştir. Smith tarafından 1956’da ise virus önce fareden, daha sonra Weller, Smith ve Rowe tarafından insandan ayrı ayrı izole edilmiştir. Cytomegalovirus adı da infekte ettiği hücrelerde yaptığı değişikliklerden ötürü ilk kez Weller tarafından kullanılmıştır.

Başlangıçta sadece konjenital infeksiyonlarla ilişkili olduğu düşünülen CMV’nin, ilerleyen yıllarda organ transplantasyonu ve bağışıklığı baskılayıcı uygulamalardan sonra gelişen ciddi infeksiyonlara da sebep olduğu görülmüştür. AIDS’li olgularda da başta retinit olmak üzere çeşitli komplikasyonlara neden olmaktadır (Riley 1997; Ho 2007).

2.1.2. Sınıflandırma

Sitomegalovirus (CMV), çift sarmallı DNA’ya sahip, zarflı virusları içeren *Herpesviridae* ailesi içerisinde yer alır. Bu ailenin en önemli özelliklerinde biri latent infeksiyon oluşturmaları ve organizmada yaşam boyu sürebilmeleridir. Bugüne kadar insan herpes virusu olan sekiz virus tanımlanmış olup, hayvanlar alemini infekte eden 100’e yakın herpes virus olduğu bilinmektedir.

Herpesviruslar çok farklı tipte hücreleri infekte etme yeteneğine sahiptirler, bu özellikleri ile herpesvirus ailesi 3 alt aile içinde sınıflandırılmaktadır (Butcher ve ark. 1998).

Alfaherpesviruslar; nörotrop viruslar olup epitel hücresi ve fibroblastlarda kolaylıkla üreyebilirler. Konak spektrumları geniştir. Replikasyon döngüleri kısa sürelidir, hücre kültürlerinde hızlı ürerler, belirgin sitopatik etki ve sıklıkla duyuşal gangliyonlarda latent infeksiyon oluşturlar. *İnsan Herpes simpleks* tip 1,2 (HSV-1,2), *Varicella-zoster virus* (VZV/HHV3) ve maymunlarda görülen *Herpes B virus* bu grupta yer alır (Jenkins ve Hoffman 2000; Davison 2003).

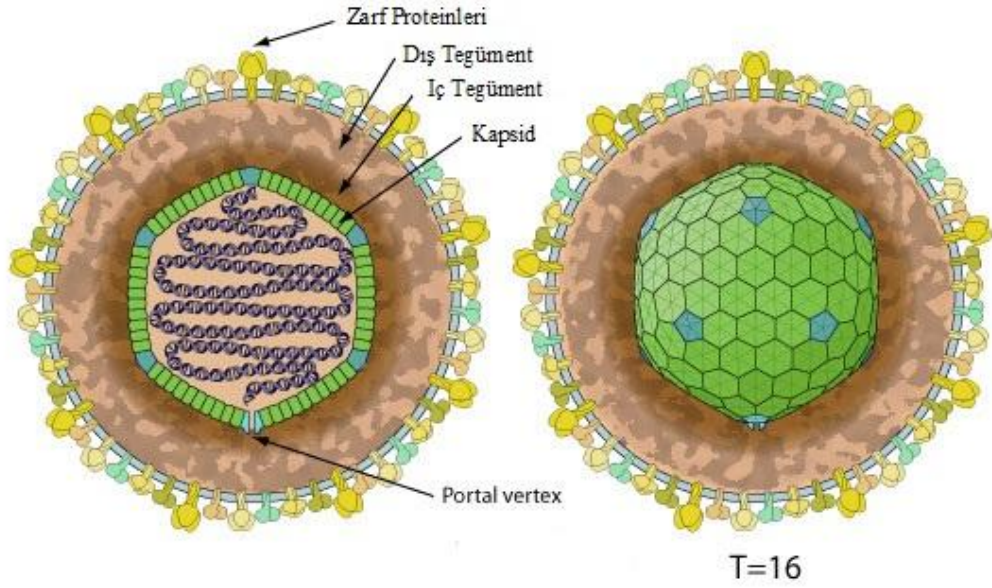
Betaherpesviruslar; tükürük bezinin inklüzyon virusları olup, infekte ettikleri hücreyi büyütürler. Bu olaya sitomegali adı verilmiştir. Konak spektrumları dardır, replikasyon döngüleri uzundur, hücre kültüründe yavaş ürerler ve alfaherpesviruslara kıyasla daha az sitopatik etki gösterirler. Sıklıkla salgı bezlerinde, lenforetiküler hücrelerde ve böbreklerde latent kalırlar. *Cytomegalovirus*(CMV), *Human Herpes virus*

6 (HHV-6), *Human Herpes virus 7* (HHV-7) bu grupta yer alır (*Jenkins ve Hoffman 2000*).

Gammaherpesviruslar; lenfotropik viruslar olup konak spektrumları oldukça dardır. Viral replikasyonları genellikle T ve B lenfositleri ile sınırlıdır. *Epstein Barr virus* (EBV) ve *Human Herpes Virus 8* (HHV-8) bu grup içerisinde yer alır (*Jenkins ve Hoffman 2000*). EBV ve HHV8'in aynı zamanda bir dizi kanser türünün etyolojisinde de etkili olduğu düşünülmektedir.

2.1.3. Virusun yapısı

CMV, *Herpesviridae* ailesi içerisinde *Betaherpesvirinae* alt ailesinde yer alan yaklaşık 236 kb büyüklüğünde, çift iplikli linear DNA genomuna sahip zarflı bir virustur. İnsan herpesvirus 5 (HHV-5) olarak da bilinir. Kısıtlı konak yapısı, hücre kültüründe yavaş üremesi, tükürük bezlerine olan tropizmi, hem intranükleer hem de intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri oluşturması ve uzun yaşam döngüsü ile karakterizedir (*Yan ve ark. 2008*). 236 kb'lık genomuyla bilinen en büyük insan herpes virusudur. Çift iplikli lineer DNA genomu nukleokapsid ile sarılmıştır. Kapsid dışında tegument veya matriks olarak adlandırılan bir tabaka ve en dışta hepsini çevreleyen lipit bir zarf bulunur (*Borst ve ark. 2001; Crough ve Khanna 2009; Cunningham ve ark. 2009*). CMV'nin morfolojik yapısı şekil 2-1'de gösterilmiştir.



Şekil 2-1: CMV'nin morfolojik yapısı.

(http://viralzone.expasy.org/viralzone/all_by_species/180.html)

CMV'nin elektron mikroskopisinde; yüksek oranda defektif viral partiküller (NIEPs) ve *dense body* denilen yoğun cisimcikler görülmektedir. NIEPs enfeksiyöz viryonlara çok benzerdir, zarfı, tegumenti ve kapsid proteinleri bulunur, ancak ikozahedral kapsid içerisinde paketlenmiş genomları yoktur. *Dense body*'ler yalnızca CMV enfeksiyonlarına özgü karakteristik bir özelliktir. Zarf ve tegument protein pp65'den (UL83) oluşmuştur. Bununla beraber her iki partikülün de CMV enfeksiyonundaki önemi tam olarak bilinmemektedir (Griffiths ve Grundy 1987; Hensel ve ark. 1996; Varum ve ark. 2004; Kalejta 2008).

2.1.3.1. Kapsid

CMV nukleokapsidi 130 nm çapında, ikozahedral yapıdadır ve 162 kapsomerden oluşmuştur. Dört adet kor proteini içermektedir: 1) Major kapsid proteini (MCP, pUL86, 154 kDa) 2) Minör kapsid proteini (mCP, pUL85, 35 kDa) 3) Minör kapsid proteinini bağlayıcı protein (mC-BP, pUL46, 33 kDa) 4) En küçük kapsid proteini (SCP, pUL48/49, 8.5 kD) (Hensel ve ark. 1996; Borst ve ark. 2001; Lai ve Britt.

2003;). Bu dört kapsid proteinin düzenlenmesi internal proteinler olan proteinaz öncülü (pNP1; HCMV UL80, 74 kDa) ve birleştirici protein öncülü (pAP; HCMV UL80.5, 38 kDa) tarafından yapılır. Kapsid 1,300 Å (130 nm) çapında 12 penton, 150 hekson ve bunları birbirine bağlayan 320 tripleksin oluşturduğu T=16 ikozahedrondan ibarettir. Kapsomerlerin tamamı MCP, tripleksler ise mCP ve mC-BP'den oluşmuştur (*Plafker ve Gibson 1998; Butcher ve ark. 1998; Nguyen ve ark. 2008*). CMV ile infekte olmuş konak hücrede 4 adet kapsid formu bulunur. İlk olarak sferik yapıda geçici prokapsidler oluşur ve daha sonra bunlar olgun kapsid formlarına (A, B ve C) dönüşür. Herpesviruslarda bu mekanizma hala belirsiz veya tartışmalı olarak kalmaktadır (*Yu ve ark. 2004*). A kapsid formlarının içerisi boştur ve penton kanalları açıktır. B kapsidi iskelet (scaffold) proteinlerinden oluşmuştur, çok az DNA içerir veya hiç içermez, penton kanalları kapalıdır. C kapsid paketlenmiş DNA içerir ve penton kanalları açıktır. Penton kanallarının kapsidin toplanması ve olgunlaşmasında rolü olduğu düşünülmektedir (*Yu ve ark. 2004; Ryner ve ark. 2006; Tandon ve ark. 2015*).

2.1.3.2. Tegument

Bu protein tabakası ilk kez Roizman ve Furlong tarafından tegument olarak adlandırılmıştır. Kapsidi çevreler ve kapsidle zarf arasında bulunur. Son zamanlarda geliştirilen antiviral tedavi olanakları için olası hedeflerden biri de tegumentte lokalize olan proteinlerdir. Tegument en az 38 farklı viral protein içerir. Bunlar da viral replikasyonun başlamasında önemli role sahiptir (*Kalejta 2008*). Bu proteinler, enfeksiyon sırasında çok çeşitli aktivasyonlarla işaretlenir ve fosforillenir. Ancak bu ve diğer posttranslasyonel modifikasyonların önemi büyük ölçüde keşfedilmemiş olarak kalmaktadır (*Kalejta 2008; Smith ve ark. 2014*). Tegument proteinleri virusun hücre içine girişi, bağışıklık sisteminden kaçma, litik enfeksiyon sırasında erken gen ekspresyonunun etkinliğini arttırmak, bir araya gelme ve hücreden çıkışı dahil olmak üzere yaşam döngüsünün tüm aşamalarında önemli rol oynamaktadır (*Smith ve ark. 2014*). CMV tegumentte bulunan beş başlıca protein türü vardır: UL48 tarafından kodlanan yüksek moleküler ağırlıklı protein (HMWP), UL47 tarafından kodlanan HMWP bağlayıcı protein, UL32 tarafından kodlanan bazik fosfoprotein (BPP veya pp150), UL82 tarafından kodlanan üst matriks proteini (UM veya pp71) ve UL83

tarafından kodlanan alt matriks proteini (LM veya pp65) (*Chen ve ark. 1999; Mocarski ve Courcella 2001*). Viryonun içinde organizasyonları tamamen anlaşılmış olmamakla birlikte, bol miktarda bulunan bu proteinlerin tegumentin yapısal belkemiğini oluşturduğuna inanılmaktadır. UL48 ve UL32 ürünleri viral replikasyon için çok önemlidir. UL32 ekspresyonunun engellenmesinin nukleokapsid birikmesi ile sonuçlanması bu proteinin tegumentin oluşmasındaki önemini göstermektedir. (*Chen ve ark. 1999; AuCoin 2006*). UL82 ile yeni sentezlenen nukleokapsidler arasında etkileşim olduğu düşünülmektedir. Ayrıca tegumentin toplanmasının başlaması için bu protein önemlidir. UL82 tarafından kodlanan pp71 proteini infekte hücrelerde *immediate-early* gen transkripsiyonunun uyarılması için yardımcı olan bir transkripsiyon aktivatörüdür ve viral replikasyon için gereklidir (*Hensel ve ark. 1996; Chen ve ark. 1999; Kalejta 2008; Crough ve Khanna, 2009*). UL83 en fazla bulunan tegument proteinidir ve viryonun protein kütlelerinin yüzde 15'ni oluşturmaktadır. pp65'in görevi enfeksiyon sırasında konak hücrenin immun yanıtının baskılanmasıdır (*McLaughlin-Taylor ve ark. 1994; Chevillotte ve ark. 2008*). pp65 aynı zamanda hem doğal hem de kazanılmış bağışık yanıtı etkisiz hale getirir. Bu protein enzimatik kinaz aktivitesi sayesinde *immediate early* proteinleri fosforile eder ve MHC sınıf I moleküllerine sunulmasını bloke eder (*Gilbert ve ark. 1996*). Bununla beraber NKp30 aktive edici reseptöre bağlanarak infekte hücreleri doğal bağışıklığın NK hücrelerine karşı korur (*Arnon ve ark. 2005; Chevillotte ve ark. 2008*) Son olarak ise pp65 interferon yanıtını baskılar ve antijenemi tayininde kullanılır (*Abate ve ark. 2004*). pp69 viral gen ekspresyonunun transaktivatörlerinden biridir ve hücre döngüsünün kontrolünü bozarak konak hücrenin fizyolojisini değiştirmektedir (*Kalejta 2008; Tandon ve Mocarski 2011*). pp150 ve pp28 virus partiküllerinin bir araya gelmesinde ve hücreden çıkışından sorumludur. Her iki tegument proteini benzer role sahip olsalar da aralarında bazı farklar vardır. UL32 tarafından kodlanan pp150 proteini kapsid proteinini bağlar. Bu EM'da ikozahedral simetrikli düzenli bir yapı olarak görünür. Sitoplazmik kapsidlerin kararlılığının sağlanması ve hareketlerinin yönlendirilmesi için gereklidir. Ayrıca bu protein CMV spesifik antikorlar için tarama testinde kullanılır (*Hensel ve ark. 1996; AuCoin ve ark. 2006; Tomtishen III 2012*). pp28 ise tegument proteinlerinin ve kapsidlerin hücre içerisinde paketlenmesinden sorumludur (*Seo ve Britt 2007*). Olgunlaşma ve giriş sırasında önemli bir rol oynayan tegument proteinleri 2 kısma ayrılır: İlk sınıf, yapısal role sahiptir, viryonların toplanması ve giriş sırasında

partiküllerin ayrılmasında rol oynar. İkinci sınıf; infeksiyon yanıtında, değişen hücre siklusunda ve intraselüler virus replikasyonunda etkilidir (Smith ve ark. 2014).

Tablo 2-1: CMV tegument proteinleri

Gen (protein)	CMV gen ailesi, gen ismi	Görevleri
UL11	Membran glikoproteini	Viral replikasyon
UL16	Membran glikoproteini	NK hücrelerini bloke eder
UL23	US22 ailesi;tegument protein	Fibroblastlara etkili
UL45	Kor, tegument protein	Geniş ribonukleotid redüktaz analoğu
UL46	Kor, tegument protein	Tripleks kapsid komponenti
UL47	Kor, tegument proteini	İntrasellüler kapsid taşınımı
UL48A	Kor, <i>smallest capsid protein</i>	Heksonlara lokalize
UL55	Viriyon zarf Glikoprotein B	Giriş ve uyarı
UL73	Viryon zarf Glikoprotein N	Giriş
UL75	Viryon zarf Glikoprotein H	gL ile ilişkili, giriş
UL82	Tegument protein	Viryon transaktivatör
UL84	UL82 gen ailesi	Replikasyonda görevli
UL86	Kor, MCP	Hekson ve penton bileşiği
UL115	Viryon zarf	gH ile ilişkili
TRS1	Tegument protein	Transkrip aktivasyonu

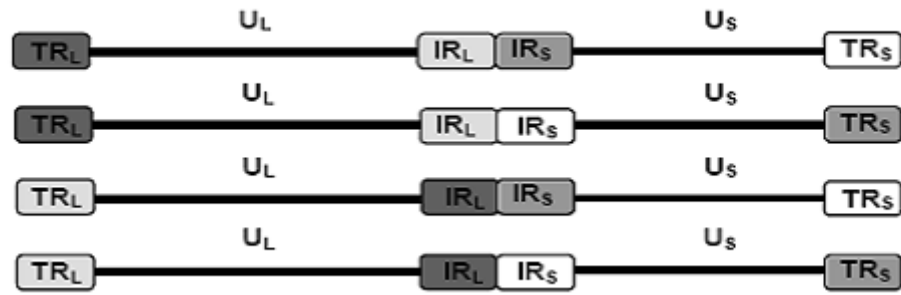
2.1.3.3. Zarf

CMV, çok sayıda zarf glikoproteini içeren karmaşık bir yapıya sahiptir ve glikozillenmiş 50'den fazla protein kodlar (*Kropff ve ark. 2012*). Yapılan çalışmalarda şimdiye kadar 15 glikoprotein tanımlanmıştır ve bunlardan 6'sı gB (UL55), gN (UL73), gO (UL74), gH (UL75), gM (UL100) ve gL (UL115) tüm herpes viruslar arasında yüksek oranda korunmuştur. Bu glikoproteinler 3 ayrı kompleks yapı oluşturur: gB homodimerlerini içeren gCI, gM / gN protein kompleksi olarak gCII; ve nihayet, gH / gL / gO protein kompleksi içeren gCIII (*Gretch ve ark.1988*). gB en büyük zarf proteini ve UL55 gen bölgesi tarafından kodlanmaktadır (*Coaquette ve ark. 2004; Meyer-König ve ark. 1998*). Virusun konak hücreye tutunmasında, hücreden hücreye geçişinde önemli rol oynar. Aynı zamanda hem hücresel hem de humoral immun sistemin en önemli hedeflerinden biridir. Zarfta en fazla bulunan glikoprotein yapılarından biri de gM/gN kompleksidir (*Shimamura ve ark. 2006*). gN disülfid bağları ile kovalent olarak gM'ye bağlanarak gM/gN kompleksini oluşturur. Bu glikoprotein kompleksinin virusun hücre içine girişinde, yayılmasında ve en önemlisi replikasyonunda rolü olduğu düşünülmektedir (*Mach ve ark. 2000; Simmen ve ark. 2001; Pignatelli ve Dal Monte 2009*). Ayrıca son zamanlarda gN'nin glikolizasyonunun virusu nötralizan antikorların etkisinden koruduğu da tespit edilmiştir (*Kropff ve ark. 2012*). UL73 tarafından kodlanan gN'nin 4 genotipi gN1, gN2, gN3 ve gN4 saptanmıştır. Bunlardan gN3 2 alt subgenotip (a ve b), gN4 ise 3 subgenotip (a,b ve c) içermektedir (*Pignatelli ve Dal Monte 2009*). Yalnızca genotip gN4 konjenital CMV ile ilişkilendirilmiştir (*Knipe ve Howley 2007*).

UL75 tarafından kodlanan gH ve UL115 kodlu gL tüm herpesviruslerde heterodimerik yapı oluşturur ve bu kompleks füzyon için gereklidir. gH, integrin $\alpha\beta 3$ bağlar ve bu integrin CMV'nin hücre içine girmesinde ko-reseptördür (*Wang ve ark. 2005*). gH linear nötralizan bir epitop içermektedir. Bu proteine karşı oluşan antikorlar nötralizan etki göstermektedir. Ancak bu etkinin olabilmesi için komplemana gereksinimi vardır. gL ise gH'nin hücre yüzeyinde sunulmasında görevlidir (*Milne ve ark. 1998; Huber ve Compton 1999*). CMV glikoproteinleri H, L ve O heterotrimetrik kompleks oluşturularak fibroblastlardaki replikasyonda önemli rol oynar (*Theiler ve Compton 2002; Vanarsdall ve ark. 2011*).

2.2. Viral Genom

CMV genomu 236 kb büyüklüğünde, çift iplikli lineer DNA'dan oluşmuştur. Terminal ve internal tekrarlarla, uzun ve kısa bölgelerle E genom tipine sahiptir. Viral DNA kısa (*unique short*:Us) ve uzun (*unique long*:UL) olarak adlandırılan iki bölgeden oluşur. Us bölgesinde “Inverted repeat short”(Irs) ve “Terminal repeat short”(TRs) bölgeleri mevcuttur. Ayrıca bu bölgeler UL bölgesinde de bulunur ve IRL, TRL olarak adlandırılır. Bu inverted bölgelerinin herhangi bir U bölgesinde bulunması sonucu virion DNA'sının 4 izomeri ortaya çıkmaktadır. CMV ile infekte hücrelerde bu izomerler eşit miktarlarda mevcuttur (Griffiths ve ark. 1987; Mocarski ve Tan Courcelle 2001; Dolan 2004; Cunningham ve ark. 2009; Sijmons ve ark. 2014).



Şekil 2-2: CMV DNA genomunun organizasyonu

1990 yılında CMV genomunun protein kodlayan kısmının tam DNA dizilimi yayımlanmıştır ve CMV DNA'sının 208 okuma çerçevesi (*open reading frame*; ORF) içerdiği gösterilmiştir. Bunlardan parçalanma olayları sonrasında 202 proteinin sentezlenmesi yönetilmektedir. Ancak tekrar bölgelerin bulunması nedeni ile bazı protein ORF'leri çift kopya olarak bulunduğundan, 167 özgül proteinin sentez olduğu düşünülmektedir. ORF'lerden artan sayıda transkripsiyonel veriler mevcut olmakla birlikte, fonksiyon ve gen ürünleri bunların yarısından daha azı için karakterize edilmiştir. (Rawlinson ve Barrell 1993) CMV ORF'lerinin 1/4'ü DNA sentezi ve metabolizmasını yönetmektedir. Diğer 3/4'ü CMV'nin olgunlaşmasından ve yapısından sorumludur. Farklı CMV kökenleri %95 oranında aynı DNA dizisine sahiptir. En fazla farklılık, glikoproteinleri kodlayan UL73, UL74, UL144 ve UL146 ORF bölgelerinde

görülür. Bu şekilde farklılık gösteren diziler, klinik örneklerde farklı viral genomlarının izlenmesinde kullanılır.

2.3. Viral Replikasyon

CMV geniş hücre tropizmi ile neredeyse tüm organları infekte etme potansiyeline sahiptir. Virusun hücreye giriş mekanizması hala tam olarak bilinmese de replikasyonda ilk aşamanın virusun zarf glikoproteinleri ile konak hücrenin yüzey reseptörleri arasındaki etkileşim olduğu düşünülmektedir. Farklı hücrelerin yüzey reseptörlerinin önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Zarfta virusun hücreye bağlanması ve penetrasyonunda önemli rol oynayan 20'ye kadar glikoprotein bulunmaktadır (*Lopper ve Compton 2002; Varnum ve ark. 2004; Mocarski ve ark. 2007*). Bunlardan gB herpesvirusler arasında en fazla bulunan, en çok korunmuş glikoproteindir ve hücreye girişte önemli rol oynamaktadır. İlk aşamada gB gM/gN kompleksi ile beraber konak hücrenin yüzeyindeki heparan sülfat proteoglikanlarına bağlanmaktadır. Bu kısa süren etkileşimi epidermal büyüme faktörü (EGFR), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGFR) ve Toll like reseptör 2 (TLR2) ile olan daha yüksek affiniteli bağlanma takip etmektedir (*Compton ve ark. 2003; Wang ve ark. 2005; Boehme ve ark. 2006; Soroceanu ve ark., 2008*). gB ayrıca CMV'nin hücre içine girişinde kofaktör görevi gören integrin $\alpha\beta 3$ ile de etkileşime girmektedir. İntegrinler aynı zamanda EGFR ve diğer reseptörlerle sinerjik etkiye girerek sinyal transdüksiyon yollarını aktive etmektedir (*Chen ve ark. 1999; Wang ve ark. 2005*). Tutunmayı viral zarf ve hücre zarının füzyonu ile gerçekleştiren penetrasyon ve hızlı bir translokasyonla nukleokapsidin ve bazı tegument proteinlerinin çekirdeğe taşınması izlenmektedir (*Tugizov ve ark. 1995; Bold ve ark. 1996*). Füzyonun gerçekleşmesi viral zarf içerisinde yüksek derecede korunmuş glikoproteinler gB, gM/gN ve muhtemelen gH/gL/gO varlığına bağlıdır. (*Vanarsdall ve ark. 2011; Kinzler ve Compton 2005*). Viral glikoproteinler ve hücrel reseptörler arasındaki etkileşim hücre içi sinyal iletişim ağını oluşturur, bu da hücrel gen ekspresyonunda değişikliklere neden olmaktadır (*Mocarski ve ark. 2007*). CMV'nin yaşam döngüsü Şekil 3.'de gösterilmiştir.

CMV'nin replikasyonu yavaştır ve 48-72 saat sürer. Viral genom transkripsiyonu ve protein sentezi denetimli bir şekilde aşağıdaki üç fazda gerçekleşir (*Griffiths ve ark. 1987; DeMeritt ve ark. 2006*).

1. Çok erken dönem proteinler(α)
2. Erken dönem proteinler(β)
3. Geç dönem proteinler(γ)

Çekirdekte DNA'nın transkripsiyonu konak hücrenin RNA polimeraz II enzimi kullanılarak gerçekleşir, fakat tüm süreç viral proteinlerin kontrolü altında gerçekleşir. İlk aşamada yeni protein sentezine gerek duymadan eksprese edilen en erken gen ürünleri sentez edilir. Bu gen ürünleri infeksiyon sonrası 1 saat içerisinde sentez edilmeye başlar ve infeksiyonun geç dönemine kadar eksprese edilirler. Bu aşamada tegument proteinlerinin rolü önemlidir (*Thomsen ve ark. 1984*).

Erken dönem proteinler, pek çok transkripsiyon faktörü ve DNA polimerazın da içerisinde bulunduğu enzimleri içerirler. Ekspresyonları 24 saat sonra başlar. Bu dönemde viral DNA polimeraz tarafından DNA ve nükleik asit bağlayan proteinler sentez edilir.

Geç dönem proteinler, esas olarak yapısal proteinleri içerir, bu proteinler viral genom replikasyonu başladıktan sonra oluşturulur. Ekspresyonları 24-36 sonra başlar ve 72 saat sonra en üst seviyeye ulaşır. Bunlardan nükleokapsid proteinleri çekirdek içerisinde toplanır ve viral DNA kapsid içerisine yerleşir. Nükleokapsidlerin nukleer inklüzyonlar oluşturması infekte hücrelerin nukleusunda 'baykuş gözü' görünümünü oluşturur. DNA'yı içine alan nükleokapsidler çekirdek zarından zarflarını alarak perinükleer sisternalara tomurcuklanır, sitoplazmik veziküller içinde hücre zarın taşınır ve ekzositoz ile salınır (*Mocarski ve ark. 2007; Hodinka 2007*).

2.4. Epidemiyoloji ve Bulaşma Yolları

CMV tüm dünyada, her yaşta insanı infekte eder ve bulaşma mevsimsel veya epidemik bir özellik göstermez. Vertikal ve horizontal yolla bulaşma gerçekleşebilir. Tüm toplumlarda yaşla birlikte seroprevalans artmakta ve görülme oranı %40-100

arasında değişmektedir. Gelişmiş ülkelerde erişkinlerde ortalama prevalans %50-60 iken, gelişmekte olan ülkelerde bu oran %90-100 arasında değişmektedir. Türkiye'de CMV seroprevalansı ile ilgili yapılan çalışmalarda erişkinlerde CMV seropozitifliğinin %85-95 arasında değiştiği görülmektedir. 1-5 yaş arası çocuklarda %82, 4-12 yaş arası çocuklarda % 74, pediatrik yaş grubunda %75,36 seropozitiflik saptanmıştır. Böbrek transplant alıcılarında ise seropozitiflik %96,88 olarak ve aynı grupta transplantasyon sonrası CMV hastalığı sıklığı %81,25 olarak bulunmuştur (*Ustaçelebi 2001; Nassikas ve Tsaples 2013*). CMV primer infeksiyon, latent infeksiyon ve reaktivasyon ya da reinfeksiyon şeklinde sekonder infeksiyonlara yol açar. İnfeksiyonlar doğumdan önce (konjenital), doğum sırasında (perinatal) veya doğumdan sonra (postnatal) kazanılanlar olarak sınıflandırılabilir (*Hodinka 2007*). Genellikle çocukluk döneminde kazanılır ve kalabalık yaşam koşullarına sahip, düşük sosyoekonomik gruplarda prevalansı yüksek seyreder. Virus idrar, tükürük, servikal ve vajinal salgılar, meni, anne sütü, gözyaşı, kan ürünleri ve nakledilen organlardan izole edilebilir. Böylece, virusu salgılayan kişilerle doğrudan veya dolaylı yakın temas, cinsel temas, konjenital yol, kan transfüzyonu ve transplantasyon ile bulaşma gerçekleşmektedir (*Nasetta ve ark. 2009*).

2.5. Patogenez ve İmmünite

2.5.1. İmmün Sistemi Baskılanmamış Konak

Sağlıklı kişilerde genellikle, infeksiyon asemptomatik olarak seyreder veya mononükleoz benzeri bir klinik tablo oluşturur (*Cohen 1985*). CMV ile temas ettikten sonra geçen 4-8 haftalık kuluçka döneminin ardından klinik belirtiler ortaya çıkar. Herpesvirus ailesinin diğer üyeleri gibi CMV de akut infeksiyon sonrası yaşam boyu vücutta latent olarak kalır (*Cohen 1985; Witt ve ark. 2000*) ve viral DNA monositler, makrofajlar, lökositler, lenfositler, vasküler endotel hücreleri ve böbrek epitelyum hücrelerinde saptanabilir (*Wang ve Shenk 2005; Galiatsatos ve ark. 2005*). Primer infeksiyonu izleyen dönemde virusun zaman zaman farinks ve idrarda bulunduğu, bu durumun aylar hatta yıllarca sürebildiği saptanmıştır. Böbreklerin uzun süreli latent CMV infeksiyonu, normal kişilerde önemli olmasa da, böbrek transplantasyonu yapılanlarda etkili olabilmektedir (*Söyletir 2002*).

Primer CMV enfeksiyonu sırasında hücreyel immunité baskılanır ve aylar sonra normale döner. Virus hücreyel immüniteye karşı MHC I molekül ekspresyonunu azaltarak ve sitokinle indüklenen MHC II molekül ekspresyonunu engelleyerek CD8 ve CD4 hücrelerin antijen sunumunu bozar. Viral bir protein ile NK hücrelerini bloke eder. Normal konakta primer enfeksiyonu takiben uzun süreli immunité gelişir. Humoral immunité, geçirilmiş enfeksiyonun en iyi göstergesi iken, hücreyel immunité CMV'ye karşı en önemli konak savunmasıdır.

2.5.2. İmmün Yetmezliğı Olan Hastalar

CMV immün sistemi baskılanmış kişilerde primer veya latent enfeksiyonun reaktivasyonu ile ciddi hastalıklara neden olabilir (*Emery 2001; Rafailidis ve ark. 2008*). Özellikle transplant alıcıları ve HIV pozitif hastalar CMV enfeksiyonu açısından büyük risk altındadır.

Transplant alıcılarında CMV'nin direkt ve indirekt etkileri ortaya çıkabilir. Genelde hastalığın spektrumu ve şiddeti; transplante organın tipine, alıcı ve vericinin transplantasyon öncesi serolojik durumlarına, seçilen immünsupresif tedavi rejimine ve greft rejeksiyonunun ağırlığına göre değişir (*Manuel ve ark. 2012*). Transplantasyon sonrası CMV hastalığı genellikle ilk üç ayda görülür (*Diemant ve ark. 2010*). Seronegatif alıcılarda gelişen primer CMV enfeksiyonu, immünolojik bellek yokluğuna bağılı olarak viral replikasyon sınırlanamadığından şiddetli hastalık tablolarına yol açar. CMV seropozitif alıcılarda reaktivasyon veya yeni farklı bir CMV suşunun alınması ile süperenfeksiyon şeklinde kendini gösterebilir. Bu tip hastalarda immünolojik bellek sayesinde enfeksiyon sınırlanabilir, bu nedenle genellikle asemptomatik ya da hafif seyreder. Fakat rejeksiyon riskini ortadan kaldırmak için antilenfosit antikorlar OKT3 veya ATG antitimosit globülin kullanan seropozitif alıcılar CMV hastalığı açısından risk taşırlar (*Kusne ve ark. 1999; Crough ve Khanna 2009*). HIV hastalarında ileri evrelerde aktif CMV enfeksiyonunun görülme sıklığı fazladır. CMV'nin CCR5 benzeri bir beta –kemokin reseptörü US28 kodladığı ve bu reseptörün HIV'in hücrelere girişinde kofaktör olarak rol oynadığı bildirilmiştir. HIV olgularında CMV'ye bağılı morbidite CD4⁺ T hücre sayısındaki azalma ile ilişkilidir. CD4⁺ T hücre sayısının

<100/μL olduğu HIV pozitif hastalar CMV hastalığı bakımından yüksek risk grubunu oluşturmaktadır (*Peek ve ark. 1998; de la Hoz ve ark. 2002; Wreghitt ve ark. 2003*).

CMV'nin kanda yayılımı, hem primer infeksiyon hem de reaktivasyon açısından önemlidir. Viremi kemik iliği nakli yapılan hastalarda CMV hastalığının gelişeceğine işaret etmektedir. Solid organ transplant alıcıları ve AIDS'li olgularda da bu durum önemli olmakla beraber, her zaman CMV hastalığı göstergesi değildir. CMV'nin *in vivo* replikasyon hızı oldukça fazladır. Viral yükün iki katına çıkması için bir gün yeterlidir.

2.5.3. Konjenital ve Perinatal İnfeksiyonlar

Konjenital CMV infeksiyonu canlı doğumların yaklaşık %1'inde (%0.2-%2.5) görülür. Gebelik sırasında geçirilen hem birincil (primer) hem de tekrarlayan (rekürren) infeksiyonlar sonucu virus transplasental yolla bebeğe geçebilir.

Hamilelikte ilk kez CMV infeksiyonu geçiren annelerden %20-40 oranında infeksiyon bebeğe geçer ve bu infeksiyon geçen bebeklerin onda biri bundan etkilenir. Sekonder infeksiyon sırasında ise bebeğe bulaşma oranı %1-2'dir. Gebeliğin erken dönemlerinde geçirilen infeksiyonun bebeği etkileme riski geç dönemde geçirilen infeksiyona göre daha yüksektir. Hem primer hem rekürren infeksiyonda bebek başlangıçta etkilenmemiş görünse de %5-10 oranında uzun dönemde etkiler ortaya çıkabilir (*Daniel ve ark. 1995; Malm ve Engman, 2007; Boppana ve ark. 2013*). Perinatal bulaşma servikal salgılar, anne sütü ve kan transfüzyonu ile gerçekleşebilir. Bu gibi durumlarda hastalığın klinik tablosu anneden geçen maternal antikorlar ve alınan virus miktarı ile ilişkilidir.

2.6. Klinik Bulgular

2.6.1. İmmun Sistemi Baskılanmamış Konak

Sağlıklı çocuk ve erişkinlerde ortaya çıkan CMV infeksiyonunun, klinik olarak EBV infeksiyonundan ayırte edilmesi güçtür. Persistan ateş (genellikle iki-üç hafta

süren), atipik lenfositozun eşlik ettiği lenfositoz veya lenfopeni ve karaciğer enzim yüksekliği ile seyreden heterofil antikor negatif mononükleoz sendromunun hakim olduğu klinik tablo, primer CMV enfeksiyonunda sık görülür. Primer EBV ile ilişkili mononükleoz sendromundan farklı olarak CMV, daha az sıklıkla farenjit, adenopati ve splenomegaliye neden olur (*Bravender 2010*). Aynı zamanda klinik ve deneysel çalışmalardan elde edilen verilerle CMV enfeksiyonunun inflamatuvar kardiovasküler hastalıkların gelişiminde veya şiddetlenmesinde ve bazı kanser türlerinin gelişiminde ilişkili olabileceği bildirilmiştir (*Söderberg 2008; Michaelis ve ark. 2009*).

2.6.2. Konjenital Enfeksiyonlar

İnfekte bebeklerin %10'u semptomatik olarak doğmaktadır. Bu bebeklerin yarısından fazlasında çok sayıda organ tutulumu görülmektedir. En fazla etkilenen ise santral sinir sistemi ve retikuloendotelial sistemdir. CMV enfeksiyonu ile doğan bebeklerde hepatomegali, splenomegali, peteşiyel döküntüler, sarılık, trombositopeni ve hemolitik anemi gibi bulgular ortaya çıkar. Bu hastaların %30'u ise çoklu organ yetmezliğinden hayatını kaybetmektedir (*Bale ve ark. 2000; Nasetta ve ark. 2009; Nigro ve Adler 2011; Boppa ve ark. 2013*).

Semptomatik konjenital CMV ile doğanlarda fizik muayenede hepatomegali ve splenomegali en fazla görülen bulgulardır. Splenomegali tüm konjenital enfeksiyonlarda rastlanan bir bulgudur. SSS ile ilgili olarak mikrosefali, koriyoretinit, motor bozukluklar ve serebral kalsifikasyonlar görülebilir. Hepatosplenomegali ve sarılık bir süre sonra azalabilir, ancak nörolojik sekeller, mikrosefali ve mental retardasyon kalıcıdır (*Preece ve ark. 1983; Cheeran ve ark. 2009*). Konjenital CMV enfeksiyonlarının çoğu doğumda klinik olarak hiçbir belirti vermeyebilirler. Bunların %5-25'inde, daha sonraki yıllarda psikomotor, işitsel, görsel ve dental anomaliler görülebilir. Asemptomatik doğan çocukların %8'inde sonraki yıllarda işitme kaybı ortaya çıkabilir. Genel olarak, konjenital CMV enfeksiyonu işitme kaybı vakalarının üçte birinden sorumludur (*Revello ve Gerna. 2002; Nasetta ve ark. 2009; Koyano ve ark. 2011*). Bir çok kadın gebelikten önce CMV enfeksiyonu geçirdiğinden hamileliğinin son trimesterinde servikslerinde bu virüsü taşıyabilmektedirler. Bu gibi durumlarda, bebek doğum kanalından geçerken enfekte olabilmektedir. Ayrıca anne sütü ve diğer sekresyonlardan da bulaşmalar

mümkündür. Perinatal CMV infeksiyonlarında diffüz visseral tutulum ve SSS hastalığı gelişmez, daha çok CMV mononükleozuna benzer semptomlar ortaya çıkar. Kan transfüzyonu yapılan yenidoğanlarda ise infeksiyon ağır bir hastalık tablosuna yol açabilir.

Doğum öncesi, doğum ve doğum sonrası dönemlerde virusle karşılaşmayan çocuklar virusu erken çocukluk döneminde ve okul öncesi dönemde, özellikle yuva ve anaokulu gibi ortamlarda edinebilirler. Küçük çocuklarda temizliğe yeterince özen gösterilmemesi ve doğru yapılmayan el yıkama uygulamaları virusun yatay bulaşma oranını da artırmaktadır. Ayrıca 1-3 yaş aralığındaki bu çocuklar bu infeksiyonu duyarlı kişilere %20 ile %40 gibi yüksek oranlarda bulaştırma yetisindedirler. (*Revello ve Gerna 2002; Melnik ve ark. 2011*).

2.6.3. İmmün Yetmezliği Olan Hastalar

CMV son yıllarda geliştirilen tanı ve tedavi yöntemlerine rağmen transplant hastalarında önemli mortalite ve morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Viral reaktivasyon solid organ transplantasyonu veya kök hücre nakli yapılan hastalarda CMV infeksiyonunun başlıca nedenlerinden biridir. Virus genellikle transplantasyon sonrası 4-8 hafta içerisinde kan veya diğer vücut sıvılarında saptanır. Solid organ transplantasyonu yapılan hastalarda en sık görülen klinik bulgular ateş, lökopeni, halsizlik, eklem ağrısı ve maküler döküntüdür. Aynı zamanda gastrointestinal ülser, karaciğer fonksiyon bozuklukları, fungal veya bakteriyel infeksiyonlar, greft reddi gibi daha ciddi komplikasyonlar da bildirilmiştir. CMV'nin böbrek nakli yapılan hastalarda renal allograft rejeksiyonu, karaciğer nakli yapılanlarda safra kaçağı, kalp nakli yapılan hastalarda koroner ateroskleroz, akciğer nakli sonrası görülen obliteratif bronşiyolit ve EBV ile birlikte transplantasyon sonrası görülen lenfoproliferatif hastalıklarla PTLD ilişkisi olduğu gösterilmiştir (*Kusne ve ark. 1999; Rafailidis ve ark. 2008*). Kök hücre nakli yapılan hastalarda CMV infeksiyonunun en yaygın bulgularından biri interstisyel pnömonidir. Aktif antiretroviral tedaviye rağmen mortalite oranı halen yüksek (>%50) olarak seyretmektedir. Gastrointestinal hastalıklar, hepatit, ensefalit ve retinit gibi başka hastalık tabloları da gelişebilmektedir. Hastalığın klinik belirtileri (ateş, pnömoni, lökopeni, gastrointestinal sistem hastalıkları, ülser, hepatit; vb.) hafif, subklinik

seyirden, çoklu organ tutulumuna kadar değişebilir. Çoğu olgularda semptomatik CMV enfeksiyonu, 3-4 hafta devam eden ateş, atalji, yorgunluk, anoreksi, karın ağrısı ve ishal belirtileri ile kendini gösterir (*Eddleston ve ark. 1997; Roizen 2003; Arista ve ark. 2003*). Hastalığın ileri döneminde karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler, lökopeni, trombositopeni ve atipik lenfositler görülebilmektedir. CMV akciğer, karaciğer, pankreas, böbrek, mide, bağırsak, beyin ve paratiroid bezlerinin tutulumuna ve ölüme neden olabilir. Retinit transplant alıcılarında nadiren ve genellikle geç dönemde (altıncı aydan sonra) ortaya çıkar.

CMV enfeksiyonu AIDS hastalarında önde gelen fırsatçı patojenlerden biridir ve HIV enfeksiyonunun progresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu hasta grubunda CMV enfeksiyonun yaygın belirtileri retinit, özofajit ve kolit olup, bununla beraber ensefalit, nöropati, pnömoni, gastrit ve karaciğer fonksiyon bozukluklarına da rastlanmaktadır (*Cheung ve Teich 1999*). CMV ensefaliti nadir görülür fakat tedavi edilmediğinde %100 ölümle sonuçlanır (*Steininger ve ark. 2005*). Bununla birlikte AIDS hastalarında CMV retinitinin (antiretroviral tedavinin yaygın kullanımından önce) diğer immunosupresif hasta gruplarına nazaran daha yaygın olması henüz tam anlamıyla açıklanabilmiş değildir. Bazı faktörlerin, örneğin CMV ve HIV virusunun aynı zamanda retinal kan damarlarına olan sinerjik etkisi, AIDS'li hastalarda tanı konmadan uzun süre devam eden CMV viremisi ve virusun retinatropik suşlarının bulunması CMV'nin bu hasta popülasyonunda yaygın olarak görülmesinde etkili olduğu düşünülmektedir (*Drew ve ark. 2002*). Bunun sonucunda da retinal hücrelerde kalınlaşma, ilerleyici retinal harabiyet 4-6 ay içinde körlüğün gelişmesine neden olur (*Peek ve ark. 1998; Drew ve ark. 2002*).

2.7. Genotiplendirme

Farklı CMV suşları arasında genom %95 oranında homolog olsa da spesifik gen bölgelerinde yüksek oranda heterojenite görülmektedir (*Görzer ve ark. 2010*). En fazla polimorfizm ise UL55, UL 73, UL74, UL144 ve UL146 gen bölgelerinde saptanmıştır. Bu polimorfik genler, belirli genotipleri hastalıkla ilişkilendirmek, suşların coğrafik dağılımı ve reinfeksiyon zamanı suşlar arasında rekombinasyon seviyesini belirlemek için kullanılmıştır (*Knipe ve Rowley 2007*). En fazla tanımlanan polimorfik gen bölgesi

glikoprotein gB'yi kodlayan UL55'dir. Doğada bulunan CMV suşlarında bugüne kadar dört farklı gB genotipi (gB1-4) saptanmıştır (Zawilinska ve ark. 2015). Bu dört genotip dışında nadir olarak gB5-7 genotipleri de bildirilmiştir (Trincado ve ark. 2000; Pignatelli ve ark. 2001). Bununla beraber gN(UL73), gO(UL74), gH(UL75), gM(UL100), UL4 ve UL144 ile de genotipleme çalışmaları yapılmıştır.

CMV genotiplerinin belirlenmesi için DNA dizi analizi (sekanslama), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), Tek Zincir Konformasyon Polimorfizm yöntemi (single-strand conformation polymorphism-SSCP), Heterodupleks Analizi (heteroduplex mobility assay-HMA) ve multiplex PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemleri uygulanmaktadır (Rota 2010).

gB, zarfta disülfid bağlayıcı homodimer olarak ortaya çıkmaktadır ve virusun konak hücreye bağlanması, hücreden hücreye geçişi ve sinsityum oluşumundan sorumludur. (Peek ve ark. 1998; Rasmussen ve ark. 2003; Coaquette ve ark. 2004; Ruiz ve ark. 2004). Üçlü kompleks yapı oluşturan gH, gL ve gO ile birlikte viryonların konak hücreye bağlanmasını ve girişini sağlamaktadır (Kinzler ve Compton 2005; Melnik ve ark. 2011; Boehme ve ark. 2006) Bu protein nötralizan antikorların ve sitotoksik T lenfositlerin hedefidir ve son zamanlarda, yapılan çalışmalarda transplasental bulaşmada, nötralizan anti-gB antikorlarının rolü tartışılmaktadır (Park ve ark. 2000; Tarrago ve ark. 2003; Arista ve ark. 2003). gB'nin en az iki devamlı nötralize edici epitopu vardır. Bunlardan ilki, amino asit 552 ve 635 arasındaki gp55 bileşenindeki bir bölgedir ve antijenik determinant 1 (AD-1) olarak adlandırılır. İkinci epitop olan AD-2 ise gp116 bölgesinde gB molekülünün N-terminal ucunda bulunur. Enfeksiyon sırasında AD-1'e karşı yüksek oranda, AD-2'ye karşı daha az miktarda anti-gB antikorları oluşmaktadır. Bu bölgelerde genetik varyasyonlar görülmekte ve mutantlar oluşabilmektedir. gB üzerindeki bu iki farklı antijenik bölgeyi hedef alan antikorlar, füzyon ve bağlanmayı inhibe edebilmektedir. Bu yüzden gB, CMV aşısı için aday bir antijen niteliği taşımaktadır (Lilja ve Mason 2012) .

Değişik ülkelerde CMV enfeksiyonu ile ilgili gB genotiplendirme çalışmalarında gB1 dominant olarak bulunmuştur (Bale ve ark. 2000; Trincado ve ark. 2000; Barbi ve ark. 2001). Türkiye'de yapılan çalışmalarda da gB1 genotipi daha yaygın olarak saptanmıştır (Çolak ve ark. 2003). HIV pozitif hastalarda ise gB2 genotipinin daha yüksek bulunması bu genotipin retinopatik özelliğinin olduğunu düşündürmektedir.

gB2'nin organ transplant alıcılarında daha çok T lenfositleri infekte ettiği, AIDS hastalarında sinir sisteminde hasar ve ciddi infeksiyonlara neden olduğunu bildiren çalışmalar vardır (*Meyer-König ve ark. 1998; Tarrago ve ark. 2003*). Genotip 1 bulunan KİT hastalarında CMV hastalığının seyrinin gB2 bulunanlara oranla daha hafif seyrettiği bildirilmiştir. gB1 ile infekte karaciğer transplant alıcılarında greft rejeksiyon ile gB1 arasında ilişki olduğunu gösteren çalışma da vardır. (*Rosen ve ark. 1998*) gB3'ün CMV interstisyel pnömoni ve nötropeni ile ilişkisi olabileceği bildirilmiştir (*Wu ve ark. 2010*). gB3 ve gB4 bulunan myelosüprese olgularında mortalite oranının yüksek olduğu görülmüştür. Karışık genotip bulunan hastalarda CMV hastalığının daha ağır seyrettiğini, greft rejeksiyon oranının ve viral yükün daha yüksek olduğunu belirten çalışmalar da vardır. (*Sarcinella ve ark. 2002; Coaquette ve ark. 2004; Puchhammer-Stöckl ve ark. 2006*)

2.8. Tanı

CMV infeksiyonlarında klinik tanı çok fazla yol gösterici değildir. Önceleri laboratuvar tanısı; virusun gösterilmesi ve özgül antikorların saptanması esasına dayanmakta iken, son yıllarda özel hasta gruplarındaki infeksiyonların tanısında bu yöntemlerin yetersiz kalması ile yeni tanı yöntemleri geliştirilmiştir (*Söyletir 2002; Dieamant ve ark. 2013*). Uygun klinik örnekler olarak idrar, kan, tükürük, bronkoalveolar lavaj sıvısı, semen, anne sütü, amniyotik sıvı, vajinal ve servikal sıvılar, transplantasyon sırasında elde edilen dokular kullanılabilir.

CMV infeksiyonlarının tanısında kullanılan yöntemler:

- Direkt inceleme
 - ✓ Histopatoloji
 - ✓ Antijen saptama
- Virusun izolasyonu
 - ✓ Hücre kültürü
 - ✓ Hızlı hücre kültürleri (Shell vial yöntemi)

- Seroloji
 - ✓ EIA (Enzyme Immunoassay)
 - ✓ İFA (İmmun Floresan Antikor)
 - ✓ Avidite

CMV infeksiyonlarının tanısında kullanılan testler moleküler ve moleküler olmayan testler olarak incelenebilir:

- Moleküler olmayan testler
 - ✓ Histopatoloji
 - ✓ Hücre kültürleri
 - ✓ pp65 antijenemi testi
 - ✓ Seroloji
- Moleküler testler
 - ✓ Nükleik asit amplifikasyon temelli testler
 - ✓ Kalitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)
 - ✓ Kantitatif PCR
 - Gerçek zamanlı PCR
 - ✓ NASBA
 - ✓ Hibridizasyon testleri
 - Hibrid yakalama DNA testi

2.8.1. Direkt İnceleme

Histopatoloji: Biyopsi veya otopsi materyallerinin incelenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Wright-Giemsa, hematoksilen ve eozin veya Papanicolaou boyalı akciğer ve diğer biyopsi örneklerinin histolojik olarak incelenmesidir. Mikroskopik incelemede bazofilik intranükleer inklüzyonları olan karakteristik 25-35 µm büyüklüğünde dev hücreler- sitomegalik hücreler görülür (*Jahan 2012*). Nükleer inklüzyon; sınırı belirgin kromatin içerdiği ve bunun etrafındaki açık alan nükleer membrana kadar uzandığı için "baykuş gözü" görünümüne sahiptir. Karakteristik sitolojik değişikliklerin bulunması CMV enfeksiyonunu akla getirmelidir, çünkü olguların çoğunda aktif hastalık göstergesidir ve duyarlılığı az, özgüllüğü yüksek bir yöntemdir.

pp65 antijenemi testi: Antijenemi testi periferik kan polimorfnükleer lökositlerinde (PMNL) CMV'nin alt matriks proteini olan pp65'i saptamaya yönelik hızlı ve kantitatif sonuç veren bir testtir (*Ptvan den Berg ve ark. 1991*). Floresan boya işaretli monoklonal antikorlar ile yapılır ve floresan mikroskopta değerlendirilir. Bu test pozitif hücre sayısı incelenen toplam PMNL sayısına oranlanarak hesaplanır. Antijenemi testi aktif replikasyonunun göstergesidir. CMV enfeksiyonunu önceden saptamaya ve viral yükün ölçülmesine olanak sağlar. Özellikle organ transplantasyonlu olgularda, yüksek antijenemi düzeyleri, hastalık gelişimi göstergesidir. Kemik iliği transplantasyonu yapılanlarda $1-2/2 \times 10^5$ ve solid organ transplantasyonu yapılanlarda $10/2 \times 10^5$ olması halinde klinik semptom aramaksızın pre emptif tedaviye başlanması önerilir (*Sia ve Patel 2000; van der Bij ve Speich 2001; Razonable ve ark. 2002*). Bununla beraber bu konuyla ilgili tam bir uzlaşmaya varılmış değildir ve farklı hasta gruplarında farklı cut off değerleri bildirilmeye devam etmektedir (*Hazar ve ark. 2003*). Testin en büyük avantajı duyarlılığının hücre kültüründen daha yüksek olması, hastalığın gelişiminden 9-18 gün önce pozitifleşmesi, 2-4 saat gibi kısa bir sürede sonuç vermesidir (*Sampaio ve ark. 2011*). Fazla sayıda örnek olduğunda zahmetli ve zaman alıcı olması, örneklerin 4 saat içerisinde çalışılmasının gerekliliği, immünohistokimyasal teknikler konusunda deneyimli personele ihtiyaç duyulması testin dezavantajlarıdır (*Ross ve ark. 2011*).

Nükleik Asit Tabanlı Testler: CMV enfeksiyonlarının tanısında moleküler yöntemler daha yaygın olarak kullanılmaktadır (*Çolak, 2003*). Viral nükleik asidin amplifiye edildiği PCR yöntemi ile klinik örneklerde viral DNA veya virusa ait mRNA dizilerinin çoğaltılarak saptanması mümkündür. Bu yöntemle kan (lökosit, plazma,

serum) idrar, beyin omurilik sıvısı (BOS), bronkoalveolar lavaj (BAL), amniyon sıvısı ve oküler sıvılar gibi örneklerle çalışılabilmektedir. PCR yönteminin duyarlılığı hücre kültürlerinden ve antijenemi testinden yüksektir ve CMV enfeksiyonunu daha erken dönemde saptayabilmektedir (*Dodt ve ark. 1997; Witt ve ark. 2000; Ross ve ark. 2011*). Duyarlılığı yüksek olduğu için seropozitif bireylerde latent enfeksiyon sırasında pozitiflik verebildiğinden, kantitatif PCR ile viral yük takibi daha doğru bir yaklaşımdır. Kantitatif PCR ile tedaviye yanıt ve direnç gelişimi takip edilebilir (*Sia ve ark. 2000; Razonable ve ark. 2002*). Hybrid yakalama DNA testi, lökositlerde CMV DNA miktarını ölçerek, kantitatif olarak CMV hastalığı riskinin önceden belirlenmesinde önemli rol oynar (*Mazzulli ve ark. 1999*). Tanıda kullanılan diğer testler Nuclisens CMV pp67 geç mRNA dizilerinin izotermal olarak çoğaltıldığı, aktif ve latent hastalığı ayırt etmede daha doğru yaklaşım sağlayan NASBA (nucleic-acid-sequence-based amplification) ve son yıllarda en çok kullanılan moleküler test olan ve çok kısa sürede sonuç veren Real Time PCR testleridir (*Aitken ve ark. 1999; Witt ve ark. 2000; Kearns ve ark. 2001; Caliendo ve ark. 2002*)

2.8.2. Virusun İzolasyonu

Hücre kültürü: CMV tanısında hücre kültürü altın standart olarak kabul edilmektedir. CMV, en iyi insan embriyosu akciğer hücrelerinde üremekte fakat bu yöntemle sitopatolojik etki çok yavaş oluşmaktadır (21 gün). Duyarlılığının düşük olması, tanının uzun sürmesi, donanımlı laboratuvar ve eğitimli laboratuvar teknisyeni gerektirmesi gibi sebeplerle rutin klinik tanıda kullanımları kısıtlıdır (*de la Hoz ve ark. 2002*).

Hızlı hücre kültürleri (Shell vial yöntemi): Düşük hızda santrifüj sonrası virusun hücre kültüründe çoğalması temeline dayanan bir yöntemdir. CMV replikasyonun erken döneminde, sitopatolojik etki oluşmadan önce viral antijenleri saptamaya yarar. 24-48 saat içerisinde viral replikasyon tespit edilebilir. Ancak hücre kültürlerinde CMV izolasyonu için önerilen kan lökosit fraksiyonunun hücrelere toksik etkisi ve hızlı hücre kültürlerinin de konvansiyonel hücre kültürleri gibi duyarlılığının düşük olması nedeni ile daha hızlı sonuç veren ve duyarlılığı daha yüksek testler tercih edilmektedir (*Çolak 2003*).

2.8.3. Serolojik yöntemler

EIA (Enzyme Immunoassay): Serolojik tanıda esas olarak ELISA temelli spesifik CMV-IgG ve CMV-IgM antikorları araştırılmaktadır (*Steininger ve ark. 2005*). EIA'nın avantajı hızlı, duyarlı ve özgül olması ve çok sayıda örneğin, nispeten düşük maliyetle ve günlük çalışılabilmesidir. Akut CMV tanısında CMV IgM pozitifliği veya iki farklı serumda CMV IgG titresinin 4 kat artışı kullanılır. Özellikle gebelerde primer CMV infeksiyonunu tespit etmede ve konjenital CMV infeksiyonunun tanısında IgM pozitifliği önemlidir. Ancak IgM pozitifliğinin 3-4 ay sürmesi, 1 yıla kadar uzayabilmesi, reinfeksiyon ve reaktivasyon sırasında da pozitif olması her zaman primer infeksiyonu göstermez.

Bununla beraber serolojik testler transplantasyon öncesi donör ve alıcının serolojik durumlarının belirlenmesinde kullanılır. İmmüsupresyon sırasında IgM yanıtının geç ortaya çıkması, pozitiflik süresinin 1 yıla kadar uzaması aktif infeksiyonu değerlendirmede yetersizdir (*Çolak 2003*).

İmmün Floresan Antikor (İFA): İFA, CMV antikorlarını saptamak için yaygın olarak kullanılan bir metoddur. İndirekt İFA da, mikroskop lamına fiks edilmiş virusla infekte hücreler test serumu dilusyonları ile inkübe edilir ve spesifik antijen-antikor kompleksleri fluorescein isothiocyanate ile konjuge antikor ve floresan mikroskop kullanılarak tespit edilir. İFA, CMV antikorlarını kalitatif ve kantitatif olarak tespit etmesi, pahalı olmayan bir test olması, duyarlı, kolay ve hızlı olması yönünden avantajlıdır. Dezavantajları ise preparatın değerlendirilmesi için bir floresan mikroskobu ve karanlık odaya; testin değerlendirilmesi ve sonuçların yorumlanması için fazla deneyimli bir çalışana ihtiyaç olmasıdır.

Avidite testi: CMV infeksiyonlarında bazı durumlarda virusa özgül IgM ve IgG antikorları birlikte pozitif saptanabilmektedir. IgM antikorları bazı reinfeksiyonlar, reaktivasyonlar, klinik veya subklinik geçirilen akut infeksiyonlardan sonra serokonversiyonunun uzaması gibi durumlarda pozitif olarak saptanabilir. Bu gibi durumlarda primer veya sekonder infeksiyon ayrımı avidite testleri ile yapılır. Primer infeksiyon sırasında virusa özgül IgG antikorlarının aviditesi düşük iken, sekonder

infeksiyonlarda yüksek avidite gösterir. Bu ayrımın yapılması gebelik dönemindeki kadınlarda ve solid organ transplantasyonu yapılan hastalarda oldukça önemlidir.

2.9. Korunma

Kullanıma girmiş CMV aşısı bulunmamakla birlikte bu konuda uzun zamandır çalışmalar sürdürülmektedir. Denenmekte olan CMV aşıları içinde en eski olanları canlı attenüe virus aşılardır. Glikoprotein aşıları, CMV geni eksprese eden *canarypox* (kanarya çiçek virusu) rekombinantları, DNA plazmid aşılardan gibi pek çok yeni aday aşılardan gündeledir.

Canlı attenüe aşılardan en iyi bilineni Towne aşısıdır. Towne aşısı insan fibroblastlarında pasajlanarak elde edilen CMV aşısıdır. Yapılan denemelerde bu aşıya karşı hücresel ve humoral yanıt elde edilmesine rağmen CMV ile infeksiyona karşı koruyucu olmadığı görülmüştür (*Sung ve Scheleiss 2010; Lilja ve Mason 2012*).

Glikoprotein aşılardan ilgili çalışmalar devam etmektedir. gB proteinini içeren aşı, hücresel ve nötralizan antikor yanıtına neden olmaktadır. Kanarya çiçek virusu ile hazırlanan rekombinant aşılarında pp65 matriks antijeni ve yapısal olmayan en erken antijen kullanılmıştır. Bu antijenlerle yapılan çalışmalar antikor ve CTL yanıtının uyarılabildiğini göstermiştir (*Sung ve Scheleiss 2010; Lilja ve Mason 2012*).

DNA plazmid aşılarından ilk deneneni pp65'i kodlayan plazmid aşısıdır. Aşının etkinliği ve özellikle güvenilirliği ile ilgili çalışmalara gereksinim vardır (*Schleiss 2008*).

Pasif bağışıklama: Pasif immünoprofilaksi ile özellikle transplantasyonda risk grubunu oluşturan vericinin seropozitif, alıcının seronegatif olduğu grupta olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu grupta gelişen CMV infeksiyonu engellenememekte fakat asıl sorunu oluşturan CMV hastalığı insidansı azalmaktadır. Allojenik kemik iliği transplantasyonu yapılan olgularda pasif immünoprofilaksinin immünomodülatör etkisi ile greft versus host hastalığını engellediği de ileri sürülmüştür.

2.10. Tedavi

CMV infeksiyonlarının tedavisinde gansiklovir, foskarnet, sidofovir ve valgansiklovir gibi ilaçlar kullanılmaktadır.

Gansiklovir CMV hastalığının tedavisinde etkili olarak gösterilen ilk antiviral ajan olup, CMV infeksiyonunun ve transplant alıcılarında CMV hastalığında ilk tedavi seçeneği olarak kalmaktadır (*Razonable ve Emery 2004; Biron 2006*). Deoksiguanozin analogu olup, antiviral etki gösterebilmesi için fosforile olup gansiklovir trifosfata dönüşmesi gerekir. CMV'nin UL97 geni gansikloviri, gansiklovir monofosfata çeviren bir viral protein kinaz kodlamaktadır. Monofosfat daha sonra selüler kinazlarla difosfat ve trifosfat şekline dönüşür. Viral DNA'ya gansiklovir trifosfatın bağlanması zincirin uzamasını önler. CMV ile infekte hücrelerde yarılanma ömrü 16,5 saattir.

İlacın kullanımı HIV'lı hastalarda (özellikle retinit varlığında), kemik iliği ve organ transplantasyonu yapılan hastalarda tartışmalı olmakla beraber, ağır konjenital CMV infeksiyonu olan bebeklerde (SSS tutulumu, koryoretinit ve pnömonisi olan) önerilmektedir. Profilaktik oral gansiklovir (1000 mg; üç doz) ilerlemiş AIDS'li hastalarda CMV hastalık riskini azaltır. Gansiklovire karşı direnç gelişimi de gösterilmiştir. En sık direnç şekli virusun UL97 genindeki mutasyonlar sonucunda ilacın fosforile edilememesidir. Daha az sıklıkta ise UL54 geninde mutasyon olabilir. İki direnç mekanizması birarada olursa yüksek dirençten söz edilmektedir. Gansiklovirin en sık yan etkileri; lökopeni, trombositopeni, myelotoksisite ve spermogenez bozukluğudur.

Foskarnet bir pirofosfat analogudur ve CMV DNA polimerazın reversibl kompetitif inhibitörüdür ve uzayan viral DNA'nın yapısına girmez. Gansiklovire dirençli hastalarda ve gansiklovirin tolere edilememesi durumunda kullanılır. Virusun UL54 geninde mutasyon sonucu foskarnete direnç gelişebilir. Foskarnetin en önemli yan etkisi renal toksisitedir.

Sidofovir, sitozinin nükleotid analogu olup, fosfanat grubu içerir ve viral enzimler tarafından fosforile edilmesine gerek yoktur. Hücresel enzimler tarafından sidofovir trifosfata çevrilir ve DNA polimerazi inhibe eder. Sidofovir uzun süreli intraselüler konsantrasyona sahiptir. Genellikle CMV retiniti olan hastaların tedavisinde kullanılır.

Valgansiklovir gansiklovirin oral biyoyararlanımı (~60%) yüksek ön ilacıdır. Gansiklovir olarak idrarla atılır. Miyelosüpresyon en önemli yan etkisidir. Hücre içi yarılanma ömrü 4 saattir (*Griffiths ve ark. 2014*).

CMV enfeksiyonunun tedavisine yönelik yeni ilaçlarla ilgili araştırmalar devam etmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Mikrosantrifüj Biofuge Stratos, Heraeus, Almanya

-20 °C, +4 °C Beko Türkiye

Isı Blokları Gen Probe, San Diego, A.B.D.

Pipet Seti (10-100-100 µL) Eppendorf, Almanya

Vorteks Combispın, Biosan, Litvanya

PCR Cihazı 2720 AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D.

Genetik Analiz CihazıABI 3130GA, AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D.

UV Tablası Hoefer Scientific Instruments, San Francisco, A.B.D.

Jel Elektroforez Sistemi Midicell Primo, Thermo Scientific, A.B.D.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri

DNA izolasyon kiti PureLink Viral RNA/DNA Mini, Life Technologies, A.B.D

DNAz-RNAz İçermeyen Su Merck, A.B.D

dNTP karışımı Fermentas, Kanada

10x Taq Buffer Fermentas, Kanada

MgCl₂ Fermentas, Kanada

Taq DNA Polimeraz Fermentas, Kanada

Primerler AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D

Agaroz Sigma-Aldrich, A.B.D.

Sephadex G-50 Fine Sigma-Aldrich, A.B.D

Spin kolonlar (PCR Saflaştırma) Macherey-Nagel GmbH&Co.KG,
Almanya

Big Dye Terminator v1.1 Kit Applied Biosystems, Foster City, A.B.D.

POP7 AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D.

Kapiler AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D.

Pipet uçları Gilson, Inc., A.B.D.

Eppendorf tüp Gilson, Inc., A.B.D.

0,25 ml PCR Tüpü Gilson, Inc., A.B.D.

3.1.3. Kullanılan Yazılımlar

Sequencing Analysis v 5.3.1 software AppliedBiosystems, Foster City, A.B.D.

DNA Star SeqManII DNASTAR, Inc., A.B.D.

BioEdit 7.2.5 <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/>

Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software v6
<http://www.megasoftware.net/>

3.2. Örneklerin Toplanması

Tez çalışması için İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na hastanemizin değişik birimlerinden ve diğer kurumlardan 2011-2015 yılları arasında CMV DNA aranması için gönderilen ve rutin tanıda nested PCR/Real Time PCR testleri ile CMV DNA pozitif bulunan toplam 46 hastaya [18 kemik iliği transplantlı, 2 renal transplantlı, 1 karaciğer transplantlı, 8 yenidoğan ve 17 diğer grup(kıllı hücreli lösemi, kronik böbrek yetmezliği (KBY), ülseratif kolit, CMV hepatiti, gastro-özofajyal reflü, poliartrit, HIV, Crohn hastalığı, medical abortus, iridosiklit, kornea bozuklukları)] ait 49 klinik örnek kullanıldı. Örneklerin 28'i plazma, 6'sı kornea absesi, 9'u biyopsi, 1'i BOS, 2'si BAL, 3'ü idrar idi.

3.3. Örneklerden Nükleik Asit Saflaştırılması

Örneklerden nükleik asit saflaştırılması PureLink Viral RNA/DNA Mini kiti kullanılarak yapıldı.

Bu amaçla biyopsi örneklerinden mercimek boyutunu (3-4 g) aşmayan parçalar steril bistüri ile iyice parçalandıktan sonra 200 µL lizis tampon (1x lizis tampon hazırlanması: 1,21 g Tris base+ 37,22 g EDTA+ 5,00 g SDS+1L DNAz-RNAz içermeyen su) ve 25 µL proteinaz K içeren tampon içine atıldı, bir gece 56 °C’de inkübe edildi ve bu örnekler plazma örnekleri gibi işlendi. Kornea örnekleri biyopsi örnekleri gibi işlendi fakat çok kısıtlı olan materyal dolayısı ile ön parçalama işlemine tabi tutulmadı.

Plazma, beyin omurilik sıvısı ve bronkoalveolar lavaj örneklerinden 200 µL’lik kısım direk olarak kullanıldı. 1,5 mL’lik steril eppendorf tüplerine aktarılacak üzerlerine 200 µL lizis solusyonu ve 25 µL proteinaz K eklendi. Örnekler 56°C’e 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerlerine 250 µL %100 etanol eklenen örnekler vortekslenip kitin içeriğindeki DNA bağlayıcı kolonlara aktarılacak 5 dakika oda ısısında inkübe edildikten sonra 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası örnekler 500 µL’lik yıkama tamponu ile 2 kez yıkandı. Örneklerde kalmış olabilecek etanolün uçması için örnek kolonları 11,000 rpm’de 1 dakika boş olarak santrifüj edildi. 1,5 mL’lik temiz eppendorf tüplerine aktarıldı ve oda ısısında 5 dakika daha bekletildi. Örneklerden DNA izolasyonu için kolonların üzerine 35 µL ayrıştırma tamponu (*elution buffer*) eklendi, oda ısısında 3 dakika bekletildikten sonra 11,000 rpm’de santrifüj işlemi ile nükleik asit ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Saflaştırılan nükleik asit örnekleri CMV gB gen bölgesi nested PCR ile çoğaltılıncaya kadar -20°C’de saklandı.

3.4. CMV gB Gen Bölgesinin Nested PCR Yöntemi ile Çoğaltılması

Örneklerin nükleik asit ekstraksiyon işlemleri tamamlandıktan sonra gB gen bölgesi nested PCR yöntemi ile çoğaltıldı.

Nested PCR işlemi için Tablo 3-1’de dizileri verilen primerler kullanıldı. Bu primerler ile CMV genomunun gB bölgesini kapsayan CMV genomunun 966-1563. nükleotidler arasındaki 597 bp’lik bölgesi çoğaltıldı (*Chou ve Dennison 1991*).

Tablo 3-1: Nested PCR ve DNA dizi analizi için kullanılan primerler

Primerin ismi	Yönü	Dizisi
gB-1	Düz	GATCTCCTGGGATATAAGGACG
gB-2	Ters	GAATRGCTGAYGGRTTGATCTTG
gB-3	Düz	ACYTTCTGGGAGCCTCGGACG
gB-4	Ters	GAGTTCCTTGAAGACCTCCTCTAG

Nested PCR işleminin birinci aşaması gB-1 ve gB-2 primerleri kullanılarak gerçekleştirildi. Birinci aşama işlemleri için tablo 3-2’de belirtilen karışım hazırlandı. Hazırlanan karışımın üzerine nükleik asit saflaştırma ürünlerinden 5 µL eklendi. Birinci aşamadan elde edilen ürünler ikinci aşama PCR işlemleri için kullanıldı.

Tablo 3-2: Nested PCR - birinci aşama bileşenleri

Bileşen	Miktar	Konsantrasyon
DNAz-RNAz İçermeyen Su	13,375 µL	25µL son reaksiyon hacmini tamamlamak için
10 x PCR Buffer	2,5 µL	1x
MgCl ₂	2,5 µL	
dNTP	0,5 µL	200 mM (Fermantas)
Primer gB-1	0,5 µL	Primerin son konsantrasyonu 25 Mm
Primer gB-2	0,5 µL	Primerin son konsantrasyonu 25 Mm
TaqDNA Polimeraz 5U/µL	0,125 µL	0.625U (Fermantas)
Toplam Hacim	20,0 µL	
Nükleik Asit Örneği	5,0 µL	
Son Hacim	25,0 µL	

PCR için hazırlanan karışım, Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) cihazında, çoğaltma işlemleri için Tablo 3-3'deki program kullanılarak inkübe edildi.

Tablo 3-3: Nested PCR - birinci ve ikinci aşama PCR programı

Aşama	Isı	Süre (Dakika)	Tanım
1. Bekleme	95 °C	02,00	Denatürasyon
2. PCR Çoğaltma Aşaması	95 °C	00,45	45 Döngü PCR ile
	50 °C	01,00	
	72 °C	02,00	
3. Bekleme	72 °C	05,00	Uzaması tamamlanmamış ürünlerin tamamlanması
4. Bekleme	04 °C	Sonsuz	İkinci aşama PCR'a kadar saklamak için

Nested PCR işleminin ikinci aşaması gB-3 ve gB-4 primerleri kullanılarak gerçekleştirildi. İkinci aşama işlemleri için Tablo 3-4'de belirtilen karışım hazırlandı. Hazırlanan karışımın üzerine birinci aşama ürünlerinden 2 µL eklendi.

PCR için hazırlanan karışım, Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) cihazında, çoğaltma işlemleri için Tablo 3-2'deki program kullanılarak inkübe edildi.

Tablo 3-4: Nested PCR - ikinci aşama bileşenleri

Bileşen	Miktar	Konsantrasyon
DNAz-RNAz İçermeyen Su	34,75 µL	25 µL son reaksiyon hacmini tamamlamak için
10 x PCR Buffer	5,0 µL	1x
MgCl ₂	5,0 µL	
dNTP	1,0 µL	200 mM (Fermantas)
Primer gB-3	1,0 µL	Primerin son konsantrasyonu 25 Mm
Primer gB-4	1,0 µL	Primerin son konsantrasyonu 25 Mm
TaqDNA Polimeraz 5U/µl	0,25 µL	1,25U (Fermantas)
Toplam Hacim	48,0 µL	
1. Aşama Ürünü	2,0 µL	
Son Hacim	50,0 µL	

Değerlendirme için örnekler %1,5'luk agaroz jel elektroforezinde yürütüldükten sonra (agaroz jel hazırlanması: 0,6 g agaroz, 50,0 µL TBE buffer, 3 µL etidyum bromür) UV tablada bantlar incelenerek 590 bp'de pozitif bant veren sonuçlar kaydedildi. Nested PCR yöntemi ile çoğaltılan ürünler -20 °C'de DNA dizi analizi için saklandı.

3.5. DNA Dizi Analizi

PCR ürünleri GeneMatrix Basic DNA Purification kiti kullanılarak pürifiye edildikten sonra DyeTerminator yöntemi ile çift yönlü DNA dizi analizine tabi tutuldu.

Pürifikasyon yöntemi:

Pürifikasyon işlemi *GeneMatrix Basic DNA purification* (EURx, Grandsk, Poland) kiti kullanılarak yapıldı. Jelden kesilen örnekler eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerlerine 500 µL *Basic Buffer* eklendi ve 56°C'de jel eriyene kadar inhibe edildi. Jel eridikten sonra üzerlerine 40 µL *Buffer Uni* eklendi, kolonlara aktarıldı ve 11,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tekrar üzerlerine 500 µL *Basic Buffer* eklendi. 11,000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Santifüj sonrası örnekler 500 µL yıkama tamponu (Wash UX2) ile iki kez yıkandı. Örneklerde kalmış olabilecek etanolun uçması için

örnek kolonları yeniden 11 000 rpm’de 1 dakika boş çevrildi. Daha sonra 1,5 mL’lik tüplere aktarıldı ve oda ısısında 5 dakika daha bekletildi. Pürifikasyon işleminin tamamlanması için kolonların üzerine 80 µL ayrıştırma tamponu (elution buffer) eklendi, oda ısısında 3 dakika bekletildikten sonra 11,000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi .

Cycling sequencing aşaması AppliedBiosystems Big Dye v1.1 (AppliedBiosystems, Foster City, USA) kiti kullanılarak yapıldı. Bu amaçla 3-5’deki DNA dizi analiz karışımı hazırlandı ve karışım Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (AppliedBiosystems, Foster City, USA) cihazında tablo 3-6’daki program kullanılarak döngüsel dizileme “cyclesequencing” işlemine tabi tutuldu.

Tablo 3-5: DNA dizi analizi için kullanılan karışımı

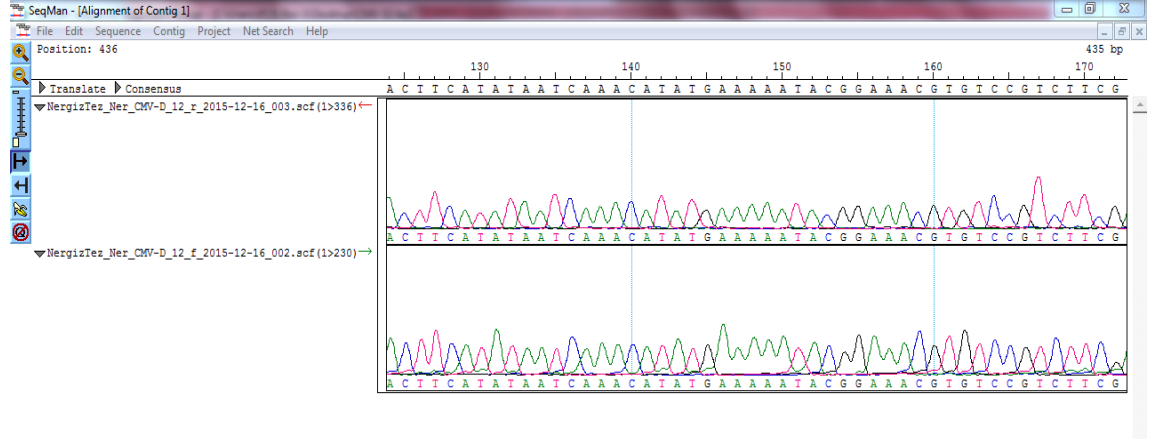
Bileşen	Miktar	Konsantrasyon
5x Sequencing Buffer	2,0 µL	1x
Big Dye Ready Reaction Mix	2,0 µL	1x
Primer (Düz ya da Ters)	1,0 µL	Primerin son konsantrasyonu 3,2 pmol
Toplam Hacim	5,0 µL	
PCR Ürünü	5,0 µL	
Son Hacim	10,0 µL	

Tablo 3-6:Döngüsel dizileme reaksiyonları PCR programı

Aşama	Isı	Süre	Tanım
1. Bekleme	96 °C	02,00	Taq Polimeraz Aktivasyonu
2. PCR Aşaması	96 °C	00,10	30 Döngü PCR ile Çoğaltma
	50 °C	00,05	
	60 °C	04,00	
4. Bekleme	04 °C	Sonsuz	Yürütme aşamasına Kadar Saklamak için

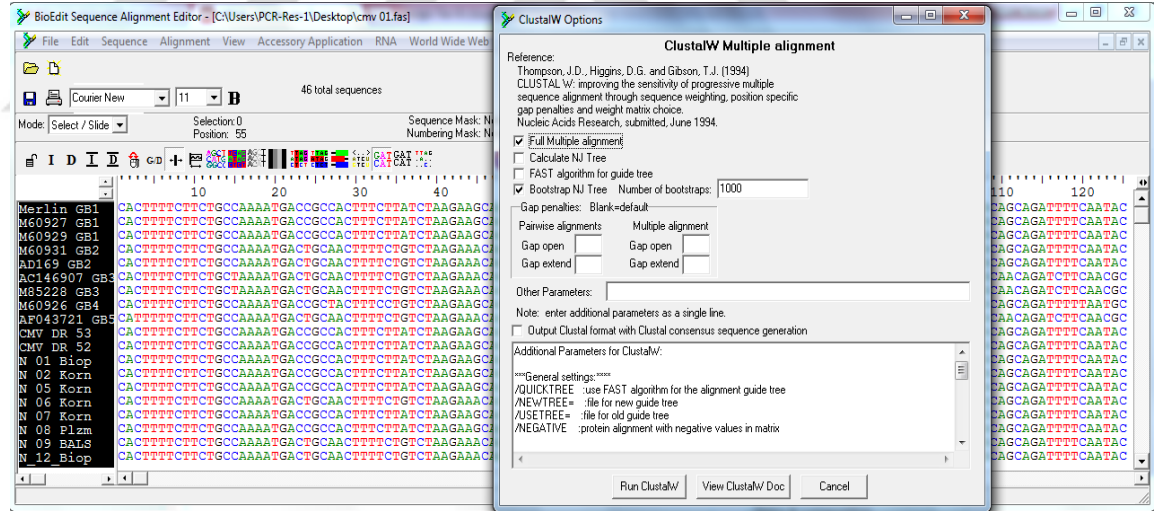
“Cyclesequencing” ürünleri Sephadex G-50 (Sigma) kullanılarak temizlendi. Bunun için 1 g Sephadex G-50 12 mL DNAz-RNAz içermeyen distile su ile yarım saat hidrate edildi. DNA bağlayıcı özelliği olmayan spin kolonlara (Macherey Nagel) aktarılan 700 µL hidrate Sephadex G-50 2000 g’de 2 dakika santrifüj edilerek temizleme kolonları hazırlandı. Bu kolonlara 10 µL “cycle sequencing” ürünü konarak örnekler yeniden 2000 g’de 2 dakika santrifüj edildi ve 3130 Genetik Analiz Cihazında (AppliedBiosystems, Foster City, USA) yürütüldü.

Genetik analiz cihazından elde edilen elektroferogram verilerinin öncelikle AppliedBiosystems Sequencing Analysis v5.3.1 software ile baz isimlendirme “base calling” işlemleri gerçekleştirildi, kalite kontrolleri yapıldı. Daha sonra DNA elektroferogramları DNASTar SeqManII programında çift yönlü eşleştirme ve karşılaştırma işlemlerine tabi tutuldular. Sonuç olarak, veri analizi için, tüm filogenetik analiz yazılımlarının okuyabileceği fasta formatında standart DNA dizi verileri hazırlandı (Şekil 3-1).



Şekil 3-1: DNA Star SeqManII programında çift yönlü eşleştirme

Elde edilen son dizilerin çoklu hizalanması ve filogenetik analizine hazır hale getirilmesi BioEdit 7.2.5 program paketi içindeki ClustalW Multiple alignment yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 3-2).



Şekil 3-2: ClustalW Multiple alignment yazılımı ile yapılan hizalama.

Gen Bankası numaraları Merlin (GB1), M60927 (GB1), M60929 (GB1), M60931 (GB2), AD169 (GB2), AC146907 (GB3), M85228 (GB3), M60926 (GB4), AF043721 (GB5) CMV Genotip 1-5 prototip dizileri çalışma için standart diziler olarak kullanıldı (bkz. Ham Veriler). Bu veriler gen bankasından indirildikten sonra BioEdit 7.2.5 program paketi içindeki ClustalW Multiple alignment yazılımı kullanılarak tez

alışmasından elde edilen diziler ile çoklu hizalanması gerçekleştirildi. Daha sonrasında filogenetik ağaç komşu eklemleme yöntemi (“Neighbour Joining”) ile Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software v6 (MEGA v6) yazılımı kullanılarak çizildi.

3.6. İstatiksel analiz:

Genotiplerin hasta tanı grupları ve örneklere göre dağılımları arasında fark olup olmadığı açık erişimli istatiksel veri analiz aracı olan Social Science Statistics (<http://www.socscistatistics.com/tests/fisher/Default2.aspx>) kullanılarak ki-kare testi ve sayıların beşten küçük olduğu durumlarda da Fischer kesin testi ile sınıandı. Sayılarının az olmasından dolayı genotip 3 ve 4 birleştirilerek analiz edildi. Benzer şekilde SOT alıcılarının sayısının az olmasından dolayı istatistiksel analizlerde bu grup da KİT hastaları ile birleştirildi. Ayrıca KİT+SOT hasta grubundaki genotip sıklıkları, konjenital enfeksiyon+diğer tanı gruplarının toplamı ile de karşılaştırıldı. Karşılaştırmalarda $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tez çalışmasına mikrobiyoloji laboratuvarına 2011-2015 yılları arasında başvuran ve CMV DNA'sı pozitif saptanan 46 hasta dahil edildi. Hastaların 25'i erkek (%54,45), 21'i kadın (%45,65), yaş aralığı 0-71, yaş ortalaması $34,29 \pm 20,22$ idi. Çalışmada bu hastalara ait 28'i plazma, 6'sı kornea absesi, 9'u biyopsi, 1'i BOS, 2'si BAL, 3'ü idrar olmak üzere toplam 49 örnek incelendi. Örneklerin CMV viral yükleri <1000 kopya/ml ile $1,32 \times 10^5$ kopya/ml arasında idi.

Tablo 4-1: Hastalara ait demografik veriler

	Hasta sayısı	Yaş (Ortalama± Std)	Yaş aralığı	KIT hastaları	SOT alıcıları	Çocuk hastalar	Diğer hastalar
Kadın	21	$33,85 \pm 21,26$	0-71	9	1	6	5
Erkek	25	$34,56 \pm 19,55$	0-63	7	2	2	14
Toplam	46	$34,29 \pm 20,22$	0-71	16	3	8	19

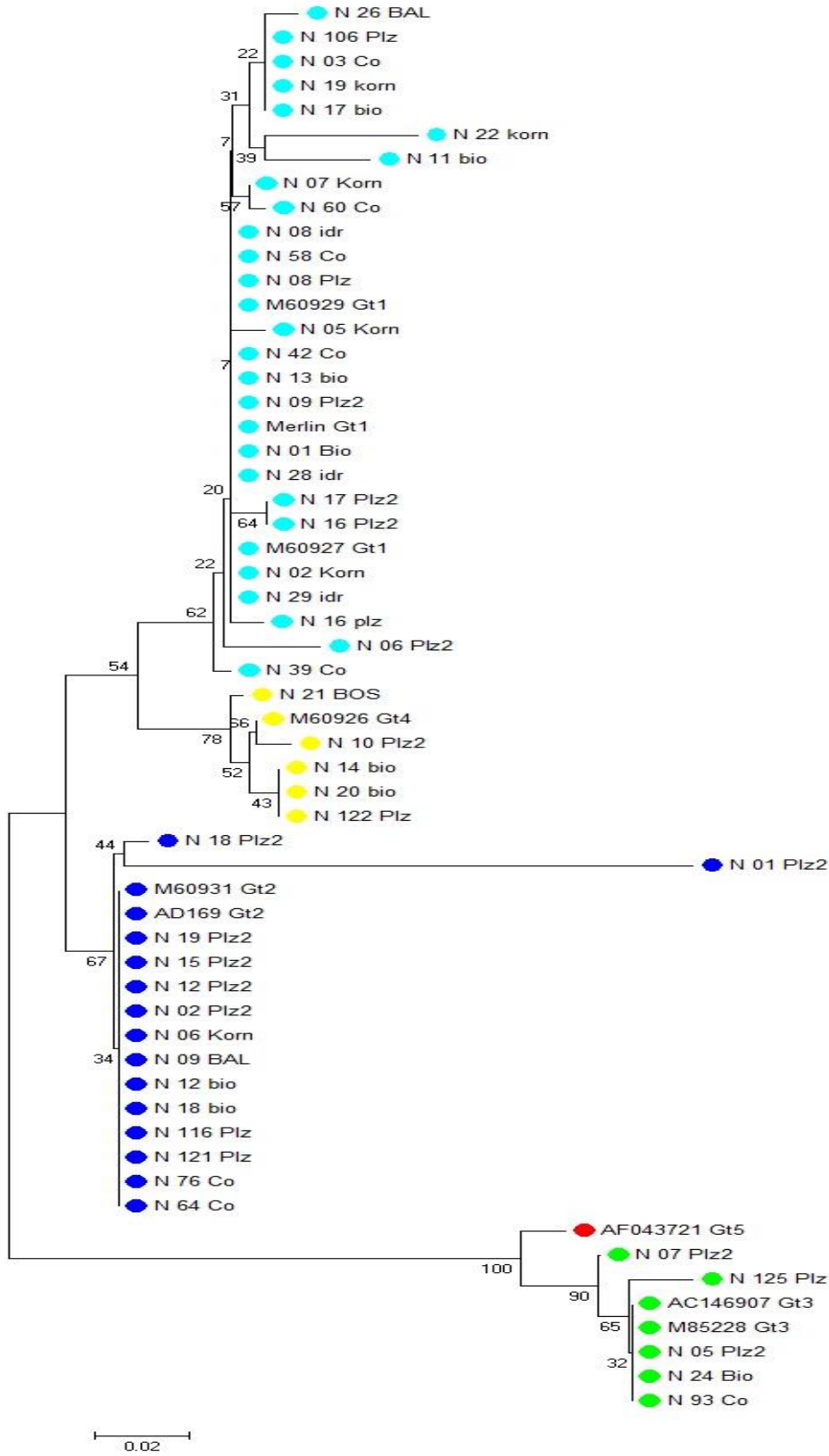
Çalışmaya dahil edilen 46 hastanın 23'ünde gB1 (%49), 14'ünde gB2 (%29,8), 5'inde gB3 (%10,6) ve 5'inde gB4 (%10,6) bulundu. Karışık genotip saptanmadı (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Hastalarda gB genotip dağılımı (n=46)

Genotip	Sayı	%
gB1	23	49
gB2	14	29,8
gB3	5	10,6
gB4	5	10,6
Toplam	47	100

*KİT hastalarından birinin farklı zamanlarda gelen örneklerinden birinde gB1 diğer gelen örneğinde gB2 genotipi bulundu

DNA dizi analizi yapılan örneklerin genotip dağılımı filogenetik ağaçta gösterilmiştir (Şekil4-1).



Şekil 4-1: Filogenetik analiz

Gen Bankası numaraları Merlin (GB1), M60927 (GB1), M60929 (GB1), M60931 (GB2), AD169 (GB2), AC146907 (GB3), M85228 (GB3), M60926 (GB4), AF043721 (GB5) CMV Genotip 1-5 prototip dizileri çalışma için standart diziler olarak kullanıldı. -GB1, -GB2, -GB3, -GB4, -GB5 genotiplerini göstermektedir. Bu veriler gen bankasından indirildikten sonra BioEdit 7.2.5 program paketi içindeki ClustalW Multiple alignment yazılımı kullanılarak tez çalışmasından elde edilen diziler ile çoklu hizalanması gerçekleştirildi. Filogenetik ağaç komşu eklemdirme yöntemi (Neighbor-Joining method, bootstrap=1000) ile çizildi. Evrimsel uzaklıklar Maximum Likelihood yöntemi kullanılarak belirlendi. Kırk üç dizinin kullanıldığı filogenetik ağaç MEGA6 yazılımı kullanılarak oluşturuldu.

Kırk altı hastadan alınan 49 klinik örneğin 25'inde gB1 (%51,02), 14'ünde gB2 (%28,57), 5'inde gB3 (%10,2) ve 5'inde gB4 (%10,2) bulundu (Tablo 4-3).

İki KİT hastasının farklı zamanlarda gelmiş 2 plazma örneği ve bir konjenital CMV hastasının hem idrar hem de plazma örneği çalışmaya dahil edildi.

Tablo 4-3: Örneklerdeki genotip dağılımı (n=49)

Genotip	Sayı	%
gB1	25	51,02
gB2	14	28,57
gB3	5	10,2
gB4	5	10,2
Toplam	49	100

Erişkin plazma örneklerinin (n=20) 7'sinde gB1 (%35), 8'inde gB2 (%40), 3'ünde gB3 (%15) ve 2'sinde gB4 (%10); yenidoğan plazmasının (n=8) 5'inde gB1 (%62,5), 2'sinde gB2 (%25) ve 1'inde gB3 (%12,5), biyopsi örneklerinin (n=9) 4'ünde gB1 (%44,44), 2'sinde gB2 (%22,23), 1'inde gB3 (%11,1) ve 2'sinde gB4 (%22,23),

kornea absesinin (n=6) 5'inde gB1 (%83,34) ve 1'inde gB2 (%16,66); BAL örneklerinin (n=2) 1'de gB1(%50) ve diğerinde gB2 (%50), BOS'da (n=1) gB4 (%100) ve idrar örneklerinde (n=3) gB1(%100) genotipi saptandı. Karışık genotip saptanmadı (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Örnek türlerine göre genotip dağılımı

Örnek	No.(%) gB genotip			
	1	2	3	4
Erişkin plazma (n=20)	7 (35)	8 (40)	3 (15)	2 (10)
Yenidoğan plazma (n=8)	5 (62,5)	2 (25)	1(12,5)	
Biyopsi (n=9)	4 (44,44)	2 (22,23)	1 (11,1)	2(22,23)
Kornea(n=6)	5 (83,34)	1(16,66)		
BAL (n=2)	1 (50)	1 (50)		
BOS (n=1)				1(100)
İdrar (n=3)	3 (100)			

Bir KİT hastasının farklı zamanlarda gelen 2 plazma örneğinden birinde gB1, diğerinde gB2 genotipi bulundu. Konjenital CMV hastasının farklı zamanlarda gelen plazma ve idrar örneklerinin her ikisinde gB1 genotipi saptandı. Her iki örnek de %100 dizilim benzerliği gösterdi.

On sekiz KİT hastasından 17 plazma ve 3 biyopsi, 3 SOT alıcısından 1 biyopsi, 1 plazma ve 1 BAL, 8 çocuk hastadan 8 plazma ve 1 idrar, “diğer” grubun içinde yer alan 16 hastadan 4 plazma, 5 biyopsi, 1 BAL, 1 BOS, 5 kornea ve 2 idrar örneği olmak üzere toplam 49 örnek çalışıldı (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: Klinik örneklerin hasta grubuna göre dağılımı (n=49)

Hasta Grubu (sayı)	Plazma	Biyopsi	BAL	BOS	Kornea	İdrar
KİT hastaları (18)	17	3				
SOT alıcıları (3)	1	1	1			
Çocuk hastalar (8)	8					1
Diğer (17)	4	5	1	1	5	2
Toplam (46)	28	9	2	1	6	3

*İki KİT hastasının farklı zamanlarda gelen 2 plazma örneği ve 1 çocuk hastanın farklı zamanlarda gelen plazma ve idrar örneği çalışıldı.

Çalışmaya dahil edilen 18 KİT hastasında genotip dağılımı gB1 %35, gB2 %35, gB3 %15 ve gB4 %15, 2 renal transplant alıcısında gB2 %100, 1 karaciğer transplant alıcısında gB1 %100, 8 konjenital CMV hastasında gB1 %66,7, gB2 %22,2, gB3 %11,1 ve gB4 %0 olarak bulundu.

“Diğer” grubun içerisinde yer alan toplam 17 hastadan 12’sinde gB1 (%70,6), 3’ünde gB2 (%17,6), 1’inde gB3 (%5,9) ve 1’inde gB4 (%5,9) saptandı (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: Genotiplerin hasta tanılarına göre dağılımı

Tanı	No.(%) gB genotip			
	gB1	gB2	gB3	gB4
KİT hastaları	7 (35,0)	7 (35,0)	3 (15,0)	3 (15)
Solid organ transplant alıcısı	0	2 (66,7)	0	1 (33,3)
Konjenital CMV	6 (66,7)	2 (22,2)	1(11,1)	0
Diğer	12 (70,6)	3 (17,6)	1(5,9)	1(5,9)
Toplam	25 (51,0)	14 (28,6)	5(10,2)	5 (10,2)

Genotiplerin örnek türlerine göre dağılımları arasında istatistiksel açıdan bir fark saptanmadı (tüm karşılaştırmalarda $p>0,05$). KİT ve SOT hastalarını birleştirildiği transplant alıcıları ile konjenital enfeksiyon tanı gruplarındaki genotip dağılımları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı. Buna karşın transplant alıcıları grubu ile “diğer” hasta grubu arasında genotip 1 açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark mevcuttu (sırası ile %30,43’e karşın %70,59 $p=0,02$). Transplant alıcıları konjenital ve “diğer” hasta grubunun toplamı ile karşılaştırıldığında da genotip 1 istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak yüksekti (sırası ile % 30,43, %69,23 $p=0,006$).

5. TARTIŞMA

CMV infeksiyonu sağlıklı bireylerde genellikle asemptomatik olarak seyretmesine karşın, immun sistemi baskılanmış kişilerde (solid organ ve kemik iliği transplantasyonu yapılan, kanserli ve AIDS'li hastalar), gebelerde ve intrauterin infeksiyon sonrası yenidoğanlarda önemli mortalite ve morbidite nedenidir (*Wreghitt ve ark. 2003*).

Bazı araştırmacılar CMV gibi kompleks bir virusun virülansı, tropizmi ve patogenezinin sadece tek bir varyant genin sorumlu olmasının gerçekçi olmadığını, çoklu gen varyantları ve diğer bazı faktörlerin birlikteliklerinin araştırılması gerektiğini belirtmiştir (*Cha ve ark. 1996; Pignatelli ve ark. 2001*).

CMV gB genotiplerinin virusun virülansı ve hücre tropizmi ile ilişkisini gösteren birçok çalışma vardır. Yapılan bir çalışmada gB1'in T lenfositlerini infekte etmediği gösterilmiştir. Lenfositlerin, özellikle granülositlerin ve monositlerin gB2 ve gB3 genotipleri ile infekte olduğu bildirilmiştir (*Meyer-König ve ark. 1998*). Başka bir çalışmada araştırmacılar tam kan veya plazma örneklerinden farklı olarak lökositlerde aynı zamanda tek tip genotip değil farklı gB genotipleri saptamışlardır. Sonuç olarak da lökositlerin farklı bir gB genotipi ile reinfeksiyon oluşmasında rolü olabileceğini bildirilmiştir (*Coaquette ve ark. 2004*).

Glikoprotein B genotiplerinin değişik klinik tablolarla ilişkisinin olduğunu veya olmadığını gösteren araştırmalar bulunmaktadır. Diemant ve ark. 2010 yılında yaptıkları çalışmada böbrek ve kemik iliği nakli yapılmış pediatrik hastalarda genellikle gB1 ve gB2 genotiplerinin daha yaygın olduğunu bildirmiştir. gB1 bulunan kişilerde hastalığın seyrinin daha hafif olduğunu, gB2 genotipinin bulunduğu hastalarda ise daha şiddetli seyrettiğini ve bu genotipin CMV infeksiyonunun reaktivasyonu ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar karışık genotipli hastaların CMV hastalığının semptomlarını göstermediği belirtmiştir. Başka bir çalışmada da CMV hastalığı gelişen KİT alıcılarında gB2 genotipi daha yaygın olarak bulunmuştur (*Woo ve ark. 1997*). Bazı araştırmacılar gB1 genotipinin SOT alıcılarında invazif hastalık gelişiminde rolü olduğunu bildirmiştir (*Nogueira ve ark. 2009*). Torok-Storb ve ark. (1997) homeopatik kök hücre nakli yapılmış hastalarda gB3 ve gB4 genotiplerinin immun sistemden

kaçarak kemik iliğinde daha fazla hasara neden olduğu ve myelosüprese olgularda mortalite oranını arttırdığını bildirmiştir. Aynı zamanda immün sistemden kaçışın bu hasta grubunda greft rejeksiyon riskini azalttığı ileri sürülmüştür.

Fries ve ark. (1994) KİT hastalarında CMV hastalığının gB1 ile infekte olgularda diğer genotipler ile infekte olgulara kıyasla daha hafif seyrettiğini bildirmiştir.

CMV enfeksiyonun miyokardit, ateroskleroz ve koroner arter hastalıkları ile ilişkisinin olduğuna dair çalışmalar vardır. Son zamanlarda ise CMV seropozitifliğinin hipertansiyon için risk faktörü oluşturabileceği belirtilmiştir. Çin’de yapılan çalışmada gB2 ve gB3’ün birlikte etken olduğu enfeksiyonların esansiyel hipertansiyonla ilişkili olduğunu bildirilmiştir (*Tang ve ark. 2014*).

Çalışmamızda farklı hasta gruplarına ait farklı klinik örneklerden elde edilen CMV izolatlarında gB genotiplerinin dağılımı araştırıldı ve bugüne kadar belirlenen CMV gB genotipleri farklı oranlarda saptandı. En sık genotip gB1 saptandı. Kırk altı hastadan toplam 49 örnekte gB genotip dağılımı gB1 %51,02, gB2 %28,57, gB3 %10,2, gB4 %10,2 olarak belirlendi. Karışık genotip bulunmadı. Farklı örnek türleri arasında genotip dağılımı istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmadı.

Hasta gruplarına göre değerlendirildiğinde KİT alıcıları, lösemi ve lenfoma hastalarında elde edilen plazma ve biyopsi örneklerinde genotip dağılımı gB1 %35, gB2 %35, gB3 %15, gB4 %15 olarak saptandı. gB1 ve gB2’nin bu hasta gruplarında en sık saptanan genotipler olduğu önceki çalışmalarda da bildirilmiştir. Seropozitiflik oranının yüksek olmasına rağmen bir KİT hastasının farklı zamanda gelen iki klinik örneğinden ilkinde gB1, diğer gelen örneğinde gB2 genotipinin saptanması yeni bir suşla reinfeksiyon olasılığına işaret etmektedir (*Chandler ve ark. 1987; Bale ve ark. 1996*). Çalışmamızda karaciğer transplantasyonu yapılan bir hastanın örneğinde gB4 bulundu. Daha önce yapılan çalışmalarda karaciğer transplant alıcılarında gB4 genotipi düşük oranlarda saptanmış ve bu genotipin CMV hastalığının gelişimi ile ilişkisi bulunamamıştır. İki renal transplant alıcısı ve bir kronik böbrek yetmezliği olan hastadan alınan örneklerde ise gB2 genotipi saptandı. Farklı ülkelerde bu hasta grubu ile yapılan çalışmalarda gB1 ve gB2 genotipleri daha yaygın olarak bulunmuştur. Ancak CMV enfeksiyonu ile bu genotipler arasında ilişki olup olmadığı hala belirsizliğini korumaktadır. BAL örneklerinde genotip dağılımı gB1 ve gB2 olarak belirlendi. Alt

solunum yollarında gB genotiplerinin dağılımları daha önce farklı hasta örnekleri ve grupları ile yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiş olup, gB1 ve gB2'nin prevalansı yüksek olarak bulundu. Çalışmamızda HIV pozitif hastanın biyopsi örneğinde gB1 saptandı. Konjenital CMV olgularında ise gB genotip dağılımı gB1 %66,7, gB2 %22,2, gB3 %11,1 ve gB4 %0 olarak bulundu. Hastalardan birinin farklı zamanda gelen plazma ve idrar örneklerinde gB1 genotipi saptandı. 'Diğer' grup içerisinde yer alan hastalarda gB genotip dağılımı gB1 %70,6, gB2 %17,6, gB3 %5,9 ve gB4 %5,9 olarak bulundu.

Genotiplerin tanı ve örnek türlerine göre dağılımlarının karşılaştırılması amacıyla KİT ve SOT alıcıları, SOT hasta sayısının düşük olmasından dolayı transplant alıcıları grubu olarak birleştirilerek yapılan istatistiksel analizlerde transplant alıcıları ile konjenital CMV tanı grubu arasında genotip dağılımı bakımından anlamlı bir fark yoktu. Transplant alıcıları ile "diğer" hasta grubunu karşılaştırdığımızda ise gB1 açısından anlamlı bir fark gözlemlendi ($p=0,02$). Transplant alıcılarında ($n=23$) gB1 genotipinin bulunma oranı %30,4 (7/23) iken, "diğer" grup içerisinde yer alan hastalarda bu oran %70,6 (12/17) olarak saptandı. Yine çalışmaya dahil edilen konjenital ve "diğer" hasta grubunun toplamında gB1 genotipi %69,2 (18/26) olarak belirlendi. Bu sonucu transplant alıcılarında gB1 genotipinin prevalansı ile karşılaştırdığımızda istatistiksel açıdan yine anlamlı bir fark bulundu ($p=0,006$).

Çolak ve ark. (2003) Türkiye'de farklı hasta gruplarında CMV genotiplerini RFLP yöntemi ile araştırmış ve solid organ transplantasyonu yapılanlarda gB tip 1 %36, gB tip 2 %21, gB tip 3 %43; kök hücre transplantasyonu yapılanlarda gB tip 1 %33, gB tip 2 %50, gB tip 3 %17; konjenital CMV enfeksiyonu olanlarda ise gB tip 1 %75; gB tip 2 %25; gB tip 3 %0 olarak bulunmuştur, gB4 genotipi saptanmamıştır. Ayrıca transplant alıcıları içinde CMV hastalığı bulunan yedi hastadan dördü gB tip 3, üçü ise gB tip 1 ile enfekte bulunmuştur. Bizim çalışmamızda SOT alıcılarından ikisinde gB2, birinde ise gB4 genotipi bulundu. KİT hastalarında ise en sık gB1 (%35) ve gB2 (%35), konjenital CMV olgularında en fazla gB1 (%66,7) genotipi bulunurken gB4 (%0) genotipi saptanmadı.

Eren-Dağlar ve ark. (2016) Türkiye'de farklı coğrafi bölgelerde ve farklı hasta gruplarından elde edilen 136 (135 plazma ve 1 amniyon sıvısı) örnekte PCR-RFLP yöntemi ile CMV gB genotiplerinin dağılımını araştırmıştır. En sık saptanan genotip

gB1 (n=44, %32,4) diğer genotipler ise sırasıyla gB2 (n=39, %28,6), gB3 (n=36, %26,5) ve gB4 (n=8, %5,9) olarak bulunmuştur. Dokuz örnekte ise tiplendirme yapılamamıştır. Hasta gruplarına göre dağılım böbrek transplant alıcılarında gB1 %32,3, gB2 %28,7, gB3 %26,5, gB4 %5,9; kalp transplant alıcılarında gB3 %57,1, gB1 %14,3 ve gB2 %14,3; kök hücre transplant alıcılarında gB1 %34,3, gB2 %28,6, gB3 %22,9 ve gB4 %5,7; yenidoğanlarda gB1 %38,4, gB3 %30,8, gB2 %15,4 ve gB4 %7,7 şeklinde olup, bir gebe hastada gB2 genotipi bulunmuştur. Çalışmamızda tıbbi düşük yapan bir hastadan alınan fetal kan örneğinde gB1 genotipi saptandı.

Kılınç A. uzmanlık tezi çalışmasında (2010) Kayseri’de farklı hasta gruplarından elde ettiği 74 klinik örneğin 33’ünde gB1 (%45), 7’sinde gB2 (%9), 14’ünde gB3 (%19), 2’sinde gB4 (%3), 18’inde karışık genotip (%24) saptamıştır. Çalışmaya dahil edilen 14 KİT hastasının 5’inde gB1 (%35,71) 2’sinde gB2 (%14,28) ve 7’sinde karışık genotip (%50) bulunmuştur. Karışık genotip bulunan hastaların 4’ünde ilk gelen örnekte tek tip genotip diğer gelen örnekte karışık genotip saptanmıştır. Araştırmacı bunun farklı CMV genotipleri ile reinfeksiyon olabileceğini bildirmiştir. Renal transplantasyon yapılan bir hastada gB1, karaciğer transplant alıcısının ilk gelen örneğinde gB1, diğer gelen örneğinde ise gB1+gB3 saptanmıştır. Çalışmamızda 18 KİT hastasında genotip dağılımı gB1 %35, gB2 %35, gB3 %15 ve gB4 %15 olarak bulundu. İncelenen örneklerin hiç birinde karışık genotip tespit edilmedi. Karaciğer transplant alıcısında gB4, renal transplantasyon yapılan iki hastada da gB2 genotipi saptandı.

Çalışmamız CMV gB genotiplerinin belirlenmesine yönelik olduğundan, genotiplerin viral yük, hastalık gelişimi ve prognoz gibi değişkenlerle ilişkisi araştırılmamıştır. Değişik ülkelerde buna yönelik çalışmalar yapılmış, gB genotiplerinin CMV hastalığının gelişiminde ve prognozundaki rolü belirlenmeye çalışılmıştır.

Roubalova ve ark. (2010) Çek Cumhuriyeti’nde CMV genotiplerini araştırdığı bir çalışmada 53 allojenik kemik iliği nakli yapılan hastada CMV gB1, gB2, gB3 ve gB4 genotiplerinin sırasıyla %30, %17, %26 ve %4 oranında bulunduğunu ve bir hastada atipik gB genotipi tespit edildiğini bildirmiştir. gB1 bulunan hastalarda viral yükün daha düşük ve CMV enfeksiyonunun daha hafif seyrettiği, anacak akut rejeksiyon riskinin daha fazla olduğu bildirilmiştir. gB2 bulunan hastalarda ise enfeksiyonun daha ağır seyrettiği ve tedaviye daha az duyarlı olduğu gösterilmiştir. Kemik iliği nakli yapılan 281 hastanın dahil edildiği başka bir çalışmada gB1 %48,4, gB2 %16,4, gB3

%26,4, gB4 % 8,2 ve karışık genotip %2,5 olarak bulunmuştur (*Torok-Storb ve ark. 1997*).

Woo ve ark. (1997) Çinde CMV gB genotiplerini araştırdıkları çalışmada CMV hastalığı gelişen 22 KİT hastasında genotip dağılımını gB1 3(%14), gB2 12(%54), gB3 3(%14), gB4 2(%9) ve karışık genotip 2(%9), CMV hastalığı gelişmeyen 11 KİT hastasında gB1 5(%46), gB2 2(%18), gB3 3(%27), gB4 0(%0) ve karışık genotip 1(%9) olarak bulmuştur. Renal tranplant alıcılarından CMV hastalığı gelişen 14 hastada genotip dağılımını gB1 7(%50), gB2 1(%7), gB3 3 (%21), gB4 2(%14) ve karışık genotip 1(%7), hastalık gelişmeyen 13 hastada ise genotip dağılımı gB1 9(%69), gB2 0(%0), gB3 3(%23), gB4 1(%8) ve karışık genotip 0(%0) saptanmıştır. Asemptomatik prematüre bebeklerde (n=13) ise gB1 10(%77), gB2 0(%0), gB3 0(%0), gB40(%0) ve karışık genotip 3(%23) olarak belirlenmiştir. Başka bir çalışmada 50 solid organ transplantasyonu yapılan hastada gB genotiplerinin dağılımı gB1 19/50 (%38), gB2 9/50 (%18), gB3 12/50 (%24), gB4 2/50 (%4), karışık genotip %16 olarak saptanmıştır (*Humar ve ark. 2003*).

Wu ve ark. 2005 yılında Çin’de yaptıkları çalışmada, 38 hematopoetik kök hücre nakli yapılmış hastada genotip dağılımını gB1 19/38 (%50), gB2 3/38 (%7,9), gB3 14/38 (%36,8) olarak saptamıştır. gB1 genotipi bulunan hastalarda klinik bulguların daha hafif seyrettiği, gB3’ün ise interstisyel pnömoni gelişiminde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. CMV gB genotipleri ile GVHH arasında ilişki bulunamamıştır. Yine Çin’de yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar 101 hematopoetik kök hücre nakli yapılmış hastada gB1 ve gB3 genotiplerinin dağılımının daha yüksek olduğunu, bununla birlikte gB3’ün interstisyel pnömoni için risk faktörü oluştura bileceğini bildirmiştir. Ayrıca, 5 hastada ilk kez olarak gB5 genotipi saptanmıştır (*Wu ve ark. 2010*).

Diemant ve ark. (2013) tarafından Brezilya’da CMV enfeksiyonu gelişen allojenik kök hücre nakli yapılmış 49 hasta ile yapılan çalışmada genotip dağılımı; gB1 19/49 (%39), gB2 17/49 (%35), gB3 3/49 (%6), gB4 7/49 (%14) ve karışık genotip 3 (%6) (gB1 + gB3, gB1 + gB4 ve gB2 + gB4) olarak bulunmuştur. Genotiplere göre hasta sağkalım oranı gB1 için %55, gB2 için %43, gB3 için %0 ve gB4 için %57 (p=0,03) olarak saptanmıştır. Araştırmacılar gB3 genotipi bulunan hastalarda gastrointestinal sistem hastalıklarının geliştiğini, preemtif tedavi sırasında yüksek viral

yük, evre II-IV akut greft versus hastalığı ve düşük sağkalım oranı gözlemlendiğini bildirmiştir.

Coaquette ve ark. (2004) Fransa’da 92 immünsüpresif hasta ile (transplantasyon yapılan ve yapılmayan) yaptıkları çalışmada gB1 genotipini %28,9, gB2 %19,6, gB3 %23 ve gB4 %2 oranında saptamıştır. Aynı çalışmada %25,8 oranında karışık genotip bulunmuştur. Karışık genotip bulunan hastalarda CMV hastalığının seyrinin ağır olduğu, greft rejeksiyon oranının arttığını ve viral yükün daha yüksek olduğunu belirtilmiştir.

İran’da Khalafkhany ve ark. (2016) 434 böbrek transplant alıcısından viremi gelişen 68 hastada RFLP yöntemi ile gB genotiplendirmesi gerçekleştirmiştir. Genotiplerin dağılımı gB1 %26,5, gB2 %20,5, gB3 %17,6 ve gB4 %5,9 olarak bulunmuştur. Karışık genotip oranı ise %29,4 saptanmıştır. Ayrıca diyabetik hastalarda viremi görülme oranının non-diyabetiklere göre 2 kat daha fazla olduğunu bildirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ise renal transplant alıcılarında akut rejeksiyon ile CMV hastalığı/infeksiyonu arasında ilişki bulunamamıştır (*Aquino ve Figueiredo 2000; Vogelberg ve ark. 1996; Pacsa ve ark. 2003*).

Carraro ve Granata (2003) Brezilya’da renal transplant alıcıları ile yapmış oldukları çalışmada, bu hasta grubunda reinfeksiyonların aynı gB ile değil farklı gB genotipleri ile olduğunu göstermiştir. Genotiplerin dağılımı ise gB2 %40, gB1 %30, gB3 %25 ve gB4 %5 oranında bulunmuştur.

Pacsa ve ark. (2003) Kuveyt’de böbrek nakli yapılmış hastalarda CMV gB genotipleri ile multipl infeksiyon sırasında diğer herpes viruslar (HHV-6,7) arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Çalışmaya dahil edilen 92 hastadan 35’inde transplantasyondan 6 ay sonra CMV infeksiyonunun klinik bulguları ortaya çıkmıştır. İlginç bir şekilde canlı donörden nakil yapılan hastalarda gB1 genotipinin prevalansı (38%) kadavradan böbrek nakli yapılan hastalara göre (13%) daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca araştırmacılar ilk hasta grubunda semptomatik CMV infeksiyonun diğer gruba nazaran az sıklıkla görülmesi gB1 genotipinin daha az patojen olduğu ile ilişkilendirmiştir. Karışık genotip oranı aynı hasta grubu ile yapılan çalışmalardan farklı olarak %27 olarak bulunmuştur. Bununla beraber gB genotipleri ile CMV infeksiyonun bulguları arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır. gB2 genotipinin pp65 antijen-pozitif hastalarda sık saptanmasının ise daha fazla araştırmaya gerek olduğunu bildirilmiştir.

Çalışmada HHV-6 ile CMV'nin klinik bulguları veya gB genotipleri arasında ilişki bulunamamıştır. HHV-7 genomu ise asemptomatik hastalarda (41,7%) semptomatik hastalara oranla (17%) daha sık saptanmıştır. Ancak HHV-7 ile böbrek nakilli hastalarda CMV enfeksiyonuna bağlı ölümler arasında ilişki olup olmadığı hala tam olarak bilinmemektedir. Başka bir çalışmada 34 renal transplant alıcısında gB genotiplerinin dağılımı gB1 %61,8, gB3 %58,8, gB2 %41,2 ve gB4 %8,8 olarak bulunmuştur. Ayrıca 34 hastadan 24'ünde karışık genotip (%70,6) saptanmıştır (Aquino ve Figueiredo, 2000).

Pang ve ark. 2008'de Kanada'da solid organ transplantasyonu yapılan hastalarda geliştirdikleri real time genotiplendirme ve quantitative PCR (RT-GQ-PCR) yöntemi ile aynı zamanda hem genotiplendirme hem de viral yük çalışmışlardır. Çalışılan 121 örnekte gB genotiplerinin dağılımı gB1 61 (%50,4), gB2 26 (%21,0), gB3 11 (%9,1), gB4 3 (%2,5) olarak bulunmuştur. Karışık genotip enfeksiyonları %17 (20/121) oranında saptanmıştır. Genotipler arasında çapraz-reaksiyon olmamıştır. Karışık genotip enfeksiyonu bulunan hastalarda viral yük daha yüksek saptanmıştır. gB genotip ve viral yükü aynı zamanda çalışmaya olanak sağlayan bu yöntemin hızlı, özgül ve SOT alıcılarında CMV enfeksiyonun takibi bakımından daha düşük maliyetli olduğunu bildirilmiştir.

Zhou ve ark. (2007) Çin'de 50 solid organ transplant alıcısında gB1 19/50 (%38), gB3 12/50 (%24), gB2 9/50 (%18), gB4 2/50 (%4) ve karışık genotip %16 olarak bulmuştur. Araştırmacılar solid organ transplant alıcılarında gB1 ve gB3 yaygın bulunurken, gB4 ve karışık genotip görülme oranının daha az olduğunu bildirmiştir.

Rosen ve ark. (1998) Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yaptıkları çalışmada 53 karaciğer transplant alıcısının kan ve idrar örneklerinde genotip dağılımını gB1 19 (%36), gB2 15(%28), gB3 13(%24), gB4 4(%8) olarak belirlemiştir. İki hastada karışık genotip (gB1+gB3, gB1+gB4) bulunmuştur. gB1 ile enfekte hastalarda greft rejeksiyon riskinin yüksek olduğunu bildirilmiştir.

Sarcinella ve ark. (2002) Kanada'da 58 karaciğer transplant alıcısında CMV genotiplerini araştırdıkları çalışmada gB1'i 15/58 (%25,9), gB2'yi 16/58 (%27,6), gB3'ü 21/58 (%36,2), gB4'ü 2/58 (%3,4) ve 4 hastada karışık genotip (%6,9) bulmuştur. Araştırmacılar karaciğer transplant alıcılarında rejeksiyon ile gB genotipleri arasında ilişki bulamamıştır. Ancak karışık genotip bulunan hastalarda CMV

hastalığının gelişme riskinin yüksek olduğunu bildirilmiştir. Karaciğer transplant alıcılarından alınan örneklerle dayanan başka bir çalışmada örneklerin %87'si (53/61) tek tip genotip içeriyordu. Örneklerin geri kalan %13'ü ise iki tip genotip içeriyordu (Novak ve ark. 2008).

Bergallo ve ark. 2011 yılında İtalya'da yaptıkları çalışmada CMV DNA'sı pozitif saptanan 44 hastanın BAL örneklerinde 5 gB genotipini (gB1-gB5) araştırmıştır ve genotiplerin dağılımı 12 (27,3%) gB1, 11 (25%) gB2, 9 (20,4%) gB3, 4 (9,1%) gB4, 0 gB5 ve 8 (18,2%) karışık genotip şeklinde olmuştur. Hastalarda klinik bulgularla genotip dağılımı arasında ilişki bulunamamıştır. Bununla beraber pnömoni olgularında gB4 ve gB2, solunum yetmezliği olan hastalarda ise gB4 ve gB3 genotiplerinin prevalansı daha fazla olmuştur.

Arista ve ark. (2003) İtalya'da 82 hastanın kan veya idrar örneklerinde farklı CMV suşları çalışmıştır. Hastaların dağılımı; ateş, mononukleoz ve hepatit gibi klinik bulgularla primer CMV enfeksiyonu geçiren 17 immunokompetant yetişkin hasta, 23 kemik iliği nakli yapılmış hasta (11 allojenik ve 12 otolog), 11 böbrek transplant alıcısı, 8 HIV hastası ($CD4 < 100/mm^3$) ve 23 konjenital CMV ile doğan bebek şeklinde olmuştur. Ayrıca transplant ve HIV hastalarından toplanan örneklerde CMV IgG seropozitifliği saptanmıştır. gB gen bölgesi PCR ile çoğaltıktan sonra RFLP ile gB genotip analizi yapılmıştır. KİT hastalarında gB3 (%52,2), gB2 (%34,8) gB1 (%13) ve gB4 (%0) şeklinde saptanmıştır. İmmunokompetant 17 hastada gB genotip 1,2 ve 3'ün dağılımı 1 (%5,9), 10 (%58,8) ve 6 (%35,3) buna uygun olarak böbrek nakli yapılmış ve HIV hastalarında bu oran 2 (%10,5) , 8 (%42,1) ve 9 (%47,4) olarak bulunmuştur. gB genotip 4 yine saptanmamıştır. Bununla beraber semptomatik konjenital CMV enfeksiyonu geçiren 16 bebekten %50'de gB1 saptanırken, gB2, gB3 ve gB4 dağılımı neredeyse eşit olarak bulunmuştur. Asemptomatik bebeklerden çalışılan idrar örneklerinde gB2 daha yaygınken, gB4 genotipi de saptanmıştır. Araştırmacılar genotip dağılımı ve klinik bulgular arasında ilişki bulamazken, özellikle gB1'in plasental dokulardaki tropizmine dikkat çekmiş ve bu genotipin semptomatik konjenital CMV enfeksiyonu ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Görzer ve ark. (2015) yenidoğanların idrar örneklerinde karışık genotipin nadiren bulunduğunu ve bunun hamilelik sırasında geçen genotip profilinin oluşturulmasında faydalı olabileceğini bildirmiştir.

Shepp ve ark. (1996) HIV ile infekte hastalarda gB2 ile retinit arasında ilişki olduğunu ve bu genotipin retinopatik özelliğinin araştırılması gerektiğini bildirmiştir.

Drew ve ark. (2002) ABD’de HIV pozitif ve retinit gelişen hastalarla, HIV pozitif fakat retiniti olmayan hasta grubunda yaptıkları çalışmada, gB2 genotipini her iki grupta da daha yaygın olarak bulmuştur. Araştırmacılar bu genotipin HIV pozitif hasta grubu arasında daha yüksek prevalansda seyrettiğini, ancak gB2 ile retinit gelişimi arasında bir bağlantının bulunamadığını bildirmiştir.

Vilas Boas ve ark. (2003) Brezilya’da merkezi sinir sistemi hastalığı gelişen ve gelişmeyen AIDS hastaları ile yaptıkları çalışmada her iki gruptan alınan örneklerde gB1 ve gB2 genotiplerinin dağılımı daha yüksek olmakla beraber, gB genotipleri ile merkezi sinir sistemi hastalığı arasında ilişki bulunamamıştır. Tarrago ve ark. (2003) AIDS hastalarının serum örneklerinde gB3, BOS örneklerinde ise gB2 genotipini daha yaygın olarak saptamıştır. Bunu gB2 genotipinin nöronlara olan tropizmi ile ilişkilendirmiş ve CMV enfeksiyonun prognozunda klinik açıdan yararlı olabileceğini bildirilmiştir. Shepp ve ark. daha önce yaptıkları çalışmada gB2 genotipinin AIDS’li hastalarda CMV retiniti ile ilişkili olduğunu bildirmelerine rağmen bu çalışmada gB2 genotipi ve CMV retiniti arasında ilişki bulunamamıştır. Rasmussen ve ark. (2003) HIV infekte olgularda farklı dokulardan alınan örneklerde farklı genotipler bulmuştur. Aynı çalışmada gB4 genotipinin ise CD4 hücre sayısının <100/μl olduğu HIV pozitif hastaların semeninde lökositlere oranla daha fazla bulunduğu bildirilmiştir.

Trincado ve ark. (2000) Avusturalya’da konjenital CMV olgularında gB genotiplerini gB1 %38,8, gB2 %21, gB3 %29,9, gB4 %7 olarak bulmuştur. Araştırmacılar RFLP yöntemi ile iki yeni genotip gB6 (%1,5) ve gB7’yi (%1,5) tespit etmiştir. Başka bir çalışmada konjenital CMV enfeksiyonu olan hastalarda gB1 %42, gB3 %26, gB2 %19 ve gB4 %13 olarak bildirilmiştir. gB genotipleri ile klinik bulgular arasında ilişki bulunamamıştır (*Barbi ve ark. 2001*). Değişik ülkelerde konjenital CMV enfeksiyonu ile ilgili gB genotiplendirme çalışmalarında gB1 dominant olarak bulunmuştur (*Trincado ve ark. 2000; Bale ve ark. 2000; Barbi ve ark. 2001*).

Jin ve ark. (2007) Çin’de CMV ile infekte bebeklerde yaptıkları çalışmada gB1 genotipini dominant olarak saptamış ve bu genotipin malformasyon, pnömoni ve sarılık ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Polonya’da yapılan başka bir çalışmada konjenital ya da postnatal CMV enfeksiyonu olan 150 bebekte en sık saptanan genotip gB2 olup,

genotiplerle viral yük ve semptomatik infeksiyon arasında ilişkinin olmadığı bildirilmiştir (*Paradowska ve ark. 2015*).

Farklı ülkelerden araştırmacılar konjenital CMV olguları arasında gB1 genotipinin daha sık saptanmasının, bu genotipin plasenta dokusuna olan tropizmi ile ilişkili olabileceği bildirmiştir. (*Barbi ve ark. 2001; Arista ve ark. 2003; Tanaka ve ark. 2005; Bale ve ark. 2000, Yamamoto ve ark. 2007*). Aynı zamanda Trincado ve ark. Avusturalya’da yaptıkları çalışmada konjenital CMV infeksiyonu olan bebeklerde gB2 genotipini diğer genotiplere oranla daha yaygın olarak bulmuş ve bunu gB2’nin plasenta dokusuna tropizmi ile ilişkilendirmiştir. Fransa’da yapılan bir çalışmada ise amniyotik sıvı örneklerinde gB1, gB2 ve gB3 genotiplerinin dağılımının neredeyse aynı olduğu ve dört genotipin de anneden bebeğe vertikal bulaşmada eşit rolü olduğu bildirilmiştir (*Picone ve ark. 2004; Yamamoto ve ark. 2007*).

Ruiz ve ark. (2004) Kosta Rika’da alkol bağımlıları, hamile kadınlar, AIDS hastaları, hemotoloji-onkoloji hastası çocuklar ve sitomegalik inklüzyon hastalığı gelişen yenidoğanlardan aldıkları plazma örnekleri ile yaptıkları çalışmada gB genotip dağılımını gB2 %73, gB1 %16 ve gB3 %11 olarak saptamıştır. Yenidoğanlarda her üç genotip (gB1, gB2 ve gB3) tespit edilirken, AIDS hastalarında ve kan donörlerinde sadece gB2 genotipi bulunmuştur. gB4 ve karışık genotip saptanmamıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda immunsupresif hastalarda, transplant alıcılarında, riskli cinsel davranışlarda bulunan yetişkinlerde ve bakım merkezlerinde kalan çocuklarda yeni CMV suşları ile reinfeksiyon oluşma riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir. (*Bale ve ark. 1996*)

Chou ve ark. (1986) ABD’de renal transplantasyon yapılan CMV seropozitif hastanın 19’unda donör kaynaklı yeni CMV suşları ile reinfeksiyon saptamıştır. Araştırmacılar primer infeksiyonun farklı CMV suşları ile yeniden infeksiyon oluşumunda koruyucu olmadığını bildirmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da reaktivasyon veya farklı suşlarla gelişen reinfeksiyonların kök hücre nakli gerçekleştirilen hastalarda CMV hastalığının gelişmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (*Zawilinska ve ark. 2015*).

ABD’de ilk kez yapılan çalışmada konjenital CMV infeksiyonu geçiren çocuklarda akut lenfoblastik lösemi (ALL) görülme oranının 3 kat daha fazla olduğu ve yenidoğanlarda CMV infeksiyonun bu hastalığın gelişiminde risk faktörü

oluşturabileceği bildirilmiştir (*Francis ve ark. 2016*). Bizim çalışmamızda da konjenital CMV olgularından birinin ilerleyen yıllarda ALL tanısı alması bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Tıbbi düşük yapan bir hastadan alınan fetal kan örneğinin CMV viral yükü ise 43×10^5 kopya/ml olarak belirlendi. Yapılan bazı çalışmalar hamileliğin ilk 3 ayında yüksek seyreden CMV viral yükünün gebeliğin sonlamasında risk faktörü oluşturabileceği bildirilmiştir (*Yan ve ark. 2015, Chesnik ve Kustanova, 2016*).

Sonuç olarak çalışmamıza dahil edilen hastalarda en sık saptanan genotip gB1 idi. gB1'den sonra en sık saptanan genotip gB2 oldu. Karışık genotip bulunmadı. gB1'in transplant alıcıları dışındaki hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması gB'nin hücreye giriş ve immun sistem için belirleyici bir molekül olmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Woo ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada renal transplant alıcılarında KİT alıcılarına göre gB1 anlamlı biçimde yüksek bulmuş ve bu durumu araştırmacılar CMV'nin iki hasta grubunda sitotoksik immun yanıtın da yer aldığı farklı immunopatolojik cevaplara ve dolayısıyla KİT hastalarında patolojik hasarın farklı yönde oluşmasına yol açtığı şeklinde yorumlamışsa da günümüzde bu immunopatolojik mekanizma halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

Dünyada farklı coğrafi bölgelerde ve farklı hasta gruplarında CMV gB genotiplerinin araştırıldığı çalışmalara rağmen gB genotiplerinin CMV hastalığının gelişiminde ve patogeneziindeki rolü hala bütün yönleri ile açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu alanda daha fazla, geniş serili ve kontrollü çalışmanın yapılması gerekmektedir. Ayrıca CMV gB genotiplerinin coğrafi bölgelere ve hasta gruplarına göre dağılımlarının belirlenmesinin tedavi, hastalığı önleme ve aşı geliştirilmesine yönelik çabalar açısından önemli olacağı yadsınamaz.

KAYNAKLAR

Abate, D., Watanabe, S., Mocarski, E. (2004). Major Human Cytomegalovirus Structural Protein pp65 (ppUL83) Prevents Interferon Response Factor 3 Activation in the Interferon Response. *Journal of Virology*, 78(20), 10995-11006.

Adam, E., Probstfield, J., Burek, J., Mccollum, C., Melnick, J., Petrie, B., Bailey, K., Debaek, M. (2011). High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *The Lancet*, 330(8554), 291-293.

Aitken, C., Barrett-Muir, W., Miller, C. ve ark.(1999). Use of molecular assays in diagnosis and monitoring of cytomegalovirus disease following renal transplantation. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9), 2804-2807.

Aquino, V., Figueiredo, L. (2000). High prevalence of renal transplant recipients infected with more than one cytomegalovirus glycoprotein B genotype. *J. Med. Virol.*, 61(1), 138-142.

Arista, S., De Grazia, S., Giammanco, G., Di Carlo, P., Iannitto, E. (2003). Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in immunocompetent, immunocompromised, and congenitally infected Italian populations. *Archives of Virology*, 148(3), 547-554.

Arnon, T., Achdout, H., Levi, O., Markel, G., Saleh, N., Katz, G., Gazit, R., Gonen-Gross, T., Hanna, J., Nahari, E., Porgador, A., Honigman, A., Plachter, B., Mevorach, D., Wolf, D., Mandelboim, O. (2005). Inhibition of the NKp30 activating receptor by pp65 of human cytomegalovirus. *Nature Immunology*, 6(5), 515-523.

AuCoin, D., Smith, G., Meiering, C., Mocarski, E. (2006). Betaherpesvirus-conserved cytomegalovirus tegument protein ppUL32 (pp150) controls cytoplasmic events during virion maturation. *Journal of Virology*, 80(16), 8199-8210.

Barbi, M., Binda, S., Caroppo, S., Primache, V., Didò, P., Guidotti, P., Corbetta, C., Melotti, D. (2001). CMV gB genotypes and outcome of vertical transmission: study on dried blood spots of congenitally infected babies. *Journal of Clinical Virology*, 21(1), 75-79.

Bale, J.F., Petheram, S.J., Souza, I.E., Murph, J.R. (1996). Cytomegalovirus reinfection in young children. *Journal of Pediatrics*, 128:347-52.

Bale, J.F., Murph, J., Demmler, G., Dawson, J., Miller, J., Petheram, S. (2000). Intrauterine cytomegalovirus infection and glycoprotein B genotypes. *The Journal of Infectious Diseases*, 182(3), 933-936.

Bergallo, M., Costa, C., Gambarino, S., Tornicelli, A., Astegiano, S., Terlizzi, M., Solidoro, P., Cavallo, R. (2011). Human cytomegalovirus glycoprotein B genotyping from bronchoalveolar lavage specimens. *Can. J. Microbiol.*, 57(4), 273-277.

Biron, K. (2006). Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases. *Antiviral Research*, 71(2-3), 154-163.

Boehme, K., Guerrero, M., Compton, T. (2006). Human cytomegalovirus envelope glycoproteins B and H are necessary for TLR2 activation in permissive cells. *The Journal of Immunology*, 177(10), 7094-7102.

Bold, S., Ohlin, M., Garten, W., Radsak, K. (1996). Structural domains involved in human cytomegalovirus glycoprotein B-mediated cell-cell fusion. *Journal of General Virology*, 77(9), 2297-2302.

Boppana, S., Ross, S. ve Fowler, K. (2013). Congenital cytomegalovirus infection: Clinical outcome. *Clinical Infectious Diseases*, 57(suppl 4), S178-S181.

Borst, E., Mathys, S., Wagner, M., Muranyi, W., Messerle, M. (2001). Genetic Evidence of an Essential Role for Cytomegalovirus Small Capsid Protein in Viral Growth. *Journal of Virology*, 75(3), 1450-1458.

Bravender, T. (2010). Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis. *Adolescent Medicine: State of Art Reviews*, 21:251-264, ix-64, ix

Butcher, S., Aitken, J., Mitchell, J., Gowen, B., Dargan, D. (1998). Structure of the human cytomegalovirus B capsid by electron cryomicroscopy and image reconstruction. *Journal of Structural Biology*, 124(1), 70-76.

Caliendo, A., St. George, K., Allega, J., Bullotta, A., Gilbane, L. ve Rinaldo, C. (2002). Distinguishing Cytomegalovirus (CMV) Infection and Disease with CMV Nucleic Acid Assays. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(5), 1581-1586.

Carraro, E., Granato, C. (2003). Single human cytomegalovirus gB genotype shed in multiple sites at the time of diagnosis in renal transplant recipients. *J. Med. Virol.*, 70(2), 240-243.

Cha, T., Tom, E., Kemble, G., Duke, G., Mocarski, E., Spaete, R. (1996). Human Cytomegalovirus Clinical Isolates Carry at Least 19 Genes Not Found in Laboratory Strains. *Journal of Virology*, 70(1), 77-83.

Chandler, S.H., Handsfield, H.H., McDoughall, J.K. (1987). Isolation of Multiple Strains of Cytomegalovirus from Women Attending a Clinic for Sexually Transmitted Diseases. *Journal of Infectious Diseases*, 155 (4), 655-660

Cheeran, M.C.J., Lokensgard, J.R., Schleiss, M.R. (2009). Neuropathogenesis of Congenital Cytomegalovirus Infection: Disease Mechanism and Prospects for Intervention. *Clinical Microbiology Reviews*, p.99-126

Chen, D., Jiang, H., Lee, M., Liu, F., Zhou, Z. (1999). Three-Dimensional Visualization of Tegument/Capsid Interactions in the Intact Human Cytomegalovirus. *Virology*, 260(1), 10-16.

Chesnik, S.G., Kisteneva, L.B. (2016). Human cytomegalovirus infection and spontaneous abortion in pregnant women of I and II trimester. *Voprosy Virologii*, 61(2), 74-78

Cheung, T.W., Teich, S.A. (1999). Cytomegalovirus infection in patients with HIV infection. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 66(2):113-124.

Chevillotte, M., Landwehr, S., Linta, L., Frascaroli, G., Luske, A., Buser, C., Mertens, T., von Einem, J. (2008). Major tegument protein pp65 of human cytomegalovirus is required for the incorporation of pUL69 and pUL97 into the virus particle and for viral growth in macrophages. *Journal of Virology*, 83(6), 2480-2490.

Chou, S.W. Acquisition of donor strains of cytomegalovirus by renal transplant recipients. (1986) *The New England Journal of medicine*, 314: 1418-1423.

Chou, S.W., Dennison, K.M. (1991). Analysis of interstrain variation of cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes. *Journal of infectious diseases*, 163(6):1229-1234

Coaquette, A., Bourgeois, A., Dirand, C., Varin, A., Chen, W., Herbein, G. (2004). Mixed cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in immunocompromised patients. *Clinical Infectious Diseases*, 39(2), 155-161.

Cohen, J., Corey, G. (1985). Cytomegalovirus infection in the normal host. *Medicine*, 64(2), 100-114.

Colugnati, F., Staras, S., Dollard, S., Cannon, M. (2007). Incidence of cytomegalovirus infection among the general population and pregnant women in the United States. *BMC Infect Dis*, 7(1), 71.

Compton, T., Kurt-Jones, E., Boehme, K., Belko, J., Latz, E., Golenbock, D., Finberg, R. (2003). Human cytomegalovirus activates inflammatory cytokine Responses via CD14 and Toll-Like receptor 2. *Journal of Virology*, 77(8), 4588-4596.

Crough, T., Khanna, R. (2009). Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 76-98.

Cunha, A., Aquino, V., Mariguela, V., Nogueira, M., Figueiredo, L. (2011) Evaluation of glycoprotein B Genotypes and load of CMV infecting blood Leukocytes on Prognosis of AIDS patients. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 53(2): 83-8

Cunningham, C., Gatherer, D., Hilfrich, B., Baluchova, K., Dargan, D., Thomson, M., Griffiths, P., Wilkinson, G., Schulz, T., Davison, A. (2009). Sequences of complete human cytomegalovirus genomes from infected cell cultures and clinical specimens. *Journal of General Virology*, 91(3), 605-615.

Çolak, D., Özkul, A., Ögünç, D., Öngüt, M., Gültekin, M. (2003) "Cytomegalovirus glikoprotein B genotiplerinin farklı hasta gruplarında dağılımı" , KLİMİK XI. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre kitabı, 371, İstanbul, 2003

Daniel, Y., Gull, I., Peyser, M., Lessing, J. (1995). Congenital cytomegalovirus infection. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 63, 7-16.

Davison, A. (2003). The human cytomegalovirus genome revisited: comparison with the chimpanzee cytomegalovirus genome. *Journal of General Virology*, 84(1), 17-28.

Deckers, M., Hofmann, J., Kreuzer, K., Reinhard, H., Edubio, A., Hengel, H., Voigt, S., Ehlers, B. (2009). High genotypic diversity and a novel variant of human cytomegalovirus revealed by combined UL33/UL55 genotyping with broad-range PCR. *Virology Journal*, 6(1), 210.

De la Hoz, R., Stephens, G. ve Sherlock, C. (2002). Diagnosis and treatment approaches of CMV infections in adult patients. *Journal of Clinical Virology*, 25, 1-12.

DeMeritt, I., Podduturi, J., Tilley, A., Nogalski, M., Yurochko, A. (2006). Prolonged activation of NF- κ B by human cytomegalovirus promotes efficient viral replication and late gene expression. *Virology*, 346(1), 15-31.

Dieamant, D.C., Bonon, S.H.A., Prates, L.C., Belangelo, V.M.S., Pontes, E.R., Costa, S.C.B. (2010). Active Human Cytomegalovirus Infection and Glycoprotein B Genotypes in Brazilian Pediatric Renal or Hematopoietic Stem Cell Transplantation Patients. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41:50-58

Dieamant, D.C., Bonon, S.H.A., Peres, R., Costa, C., Albuquerque, D., Miranda, E., Aranha, F., Oliveira-Duarte, G., Fernandes, V., De Souza, C., Costa, S., Vigorito, A. (2013). Cytomegalovirus (CMV) genotype in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *BMC Infect Dis*, 13(1), 310.

Dodt, K., Jacobsen, P., Hofmann, B., Meyer, C., Kolmos, H., Skinhøj, P., Norrild, B., Mathiesen, L. (1997). Development of cytomegalovirus (CMV) disease may be predicted in HIV-infected patients by CMV polymerase chain reaction and the antigenemia test. *AIDS*, 11(3), F21-F28.

Dolan, A. (2004). Genetic content of wild-type human cytomegalovirus. *Journal of General Virology*, 85(5), pp.1301-1312.

Drew, W., Chou, S., Miner, R., Mohr, B., Busch, M., van der Horst, C., Asmuth, D., Kalish, L. (2002). Cytomegalovirus glycoprotein B groups in human immunodeficiency virus-infected patients with incident retinitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 186(1), 114-117.

Eddleston, M., Peacock, S., Juniper, M., Warrell, D. (1997). Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clinical Infectious Diseases*, 24(1), 52-56.

Emery, V. (2001). Investigation of CMV disease in immunocompromised patients. *Journal of Clinical Pathology*, 54(2), 84-88.

Engman, M., Malm, G., Engström, L., Petersson, K., Karltorp, E., Teär Fahnehjelm, K., Uhlén, I., Guthenberg, C. and Lewensohn-Fuchs, I. (2008). Congenital CMV infection: Prevalence in newborns and the impact on hearing deficit. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 40(11-12), 935-942.

Eren Dağlar, D., Öngün, G., Çolak, D., Özkul, A., Mutlu, D., Zeytinoğlu, A., Midilli, K., Gökahmetoğlu, S., Günseren, F., Ögünç, D., Gültekin, M. (2016). Türkiye’de farklı coğrafi bölgelerde ve farklı hasta gruplarındaki Sitomegalovirus glikoprotein B genotiplerinin belirlenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 50(1): 53-62

Farber, S., Wolbach, S. (1932). Intranuclear and cytoplasmic inclusions (protozoan-like bodies) in the salivary glands and other organ of children. *American Journal of Pathology*, 8:123-135

Francis, S.S., Wallace, A.D., Wendt, G.A., Li, L., Liu, F., Riley, L.W., Kogan, S., Walsh, K.M., Smith, A.S., Dahl, G.V., Ma, X., Delwart, E., Metayer, K., Wiemels, J.L. (2016). In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Bloodjournal*, 129(12):1680-1684

Fries, B.C., Chon, S., Boeckh, M., Torok-Storb, B. (1994). Frequency distribution of cytomegalovirus glycoprotein genotypes in bone marrow transplant recipients. *Journal of Infectious Diseases*, 169 (4): 769-774

Galiatsatos, P., Shrier, I., Lamoureux, E., Szilagyi, A. (2005). Meta-analysis of Outcome of Cytomegalovirus Colitis in Immunocompetent Hosts. *Dig Dis Sci*, 50(4), 609-616.

Gilbert, M., Riddell, S., Plachter, B., Greenberg, P. (1996). Cytomegalovirus selectively blocks antigen processing and presentation of its immediate-early gene product. *Nature*, 383(6602), 720-722.

Görzer, İ., Guelly, C., Trajanoski, S., Punchhammer-Stockl, E. (2010). Deep Sequencing Reveals Highly Complex Dynamics of Human Cytomegalovirus Genotypes in Transplant Patients over Time. *Journal of Virology*, 84(14), 7195-7203

Görzer, İ., Trajanoski, S., Popow-Kraupp, T., Puchhammer-Stöckl, E. (2015). Analysis of human cytomegalovirus strain populations in urine samples of newborns by ultra deep sequencing. *Journal of Clinical Virology*, 73 (2015) 101–104 .

Gretch, D., Gehrz, R., Stinski, M. (1988). Characterization of a human cytomegalovirus glycoprotein complex (gC1). *Journal of General Virology*, 69(6), 1205-1215.

Griffiths, P., Grundy, J. (1987). Molecular biology and immunology of cytomegalovirus. *Biochemical Journal*, 241(2), 313-324.

Griffiths, P., Baraniak, I., Reeves, M. (2014). The pathogenesis of human cytomegalovirus. *J. Pathol.*, 235(2), 288-297.

Hazar, V., Uğur, A., Çolak, D., Saba, R., Tezcan, G., Küpesiz, A. (2006). Cytomegalovirus antigenemia and outcomes of patients undergoing allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: effects of long-term high-dose acyclovir prophylaxis and preemptive ganciclovir treatment. *Japanese journal of infectious diseases*, 59(4), 216-221.

Hensel, G., Meyer, H., Buchmann, I., Pommerehne, D., Schmolke, S., Plachter, B., Radsak, K. and Kern, H. (1996). Intracellular localization and expression of the human cytomegalovirus matrix phosphoprotein pp71 (ppUL82): evidence for its translocation into the nucleus. *Journal of General Virology*, 77(12), pp.3087-3097.

Ho, M. (2007). The history of cytomegalovirus and its diseases. *Medical Microbiology and Immunology*, 197(2), 65-73.

Hodinka, R.L. (2007). Human Cytomegalovirus. İçinde Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnick DW (Ed.) Manual of clinical microbiology. 10th ed. Washington, DC: ASM Press; 2011. 1558–74.

Hsu, C., Li, H., Hung, Y., Leu, Y., Wu, W., Wang, F., Lee, K., Chang, P., Wu, C., Lu, Y., Huang, T., Chang, Y., Hsiao, S. (2010). Targeted methylation of CMV and E1A viral promoters. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 402(2), 228-234.

Huber, M., Compton, T. (1999). Intracellular formation and processing of the heterotrimeric gH-gL-gO (gCIII) glycoprotein envelope complex of human cytomegalovirus. *Journal of Virology*, 73(5), 3886-3892.

Humar, A., Kumar, D., Gilbert, C., Boivin, G. (2003). Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B genotypes and response to antiviral therapy, in solid-organ-transplant recipients with CMV disease. *The Journal of Infectious Diseases*, 188:581-584

Ikewaki, J., Ohtsuka, E., Kawano, R., Ogata, M., Kikuchi, H., Nasu, M. (2003). Real-Time PCR assay compared to Nested PCR and Antigenemia assays for detecting cytomegalovirus reactivation in adult T-Cell Leukemia-Lymphoma patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(9), 4382-4387.

Jahan, M. (2012). Laboratory diagnosis of CMV infection: A Review. *Bangladesh Journal of Medical Microbiology*, 4(2).

Jenkins, F.J., Hoffman, L.J. (2000). Overview of Herpesviruses. İçinde Goedert, J.J. Ed., *Infectious causes of cancer: Targets for intervention*. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2000

Jones, C.A. (2003). Congenital cytomegalovirus infection. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. 33, 65-93

Jin, H., Wang, X., Li, S. (2007). Human cytomegalovirus glycoprotein B genotype correlates with different symptoms of infected infants. *Intervirology*, 50(3), 219-223.

Kalejta, R. (2008). Tegument proteins of human cytomegalovirus. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(2), 249-265.

Kearns, A., Guiver, M., James, V., King, J. (2001). Development and evaluation of a real-time quantitative PCR for the detection of human cytomegalovirus. *Journal of Virological Methods*, 95(1-2), 121-131.

Khalafkhany, D., Makhdoomi, K., Taghizadeh Afshari, A., Motazakker, M. (2016). Prevalence and genotype distribution of cytomegalovirus UL55 sequence in renal transplant recipients in north west of Iran. *Journal of Medical Virology*, 88(9), 1622-1627.

Kılınç, A. (2010) Klinik örneklerden izole edilen Cytomegalovirus (CMV) suşlarının genotiplerinin araştırılması. Tıpta uzmanlık tezi. T.C. Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

Kinzler, E., Compton, T. (2005). Characterization of human cytomegalovirus glycoprotein-induced cell-cell fusion. *Journal of Virology*, 79(12), 7827-7837.

Koyano, S., Inoue, N., Oka, A., Moriuchi, H., Asano, K., Ito, Y., Yamada, H., Yoshikawa, T., Suzutani, T. (2011). Screening for congenital cytomegalovirus infection using newborn urine samples collected on filter paper: feasibility and outcomes from a multicentre study. *BMJ Open*, 1(1), e000118-e000118.

Kropff, B., Burkhardt, C., Schott, J., Nentwich, J., Fisch, T., Britt, W., Mach, M. (2012). Glycoprotein N of human cytomegalovirus protects the virus from neutralizing antibodies. *PLoS Pathog*, 8(10), e1002999.

Kusne, S., Shapiro, R., Fung, J. (1999). Prevention and treatment of cytomegalovirus infection in organ transplant recipients. *Transplant Infect Dis*, 1(3), 187-203.

Lai, L. and Britt, W. (2003). The interaction between the major capsid protein and the smallest capsid protein of human cytomegalovirus is dependent on two linear sequences in the smallest capsid protein. *Journal of Virology*, 77(4), 2730-2735.

Leung, A., Sauve, R., Davies, H. (2003). Congenital cytomegalovirus infection. *Journal of the National Medical Association*, 95(3), 213-218.

Lilja, A., Mason, P. (2012). The next generation recombinant human cytomegalovirus vaccine candidates—Beyond gB. *Vaccine*, 30(49), 6980-6990.

Lopper, M., Compton, T. (2002). Disulfide bond configuration of human cytomegalovirus glycoprotein B. *Journal of Virology*, 76(12), 6073-6082.

Lowenstein, C. (1907). Ueber protozoenartige gebilde in den organen von kindern. *Zbl. Allg. Pathol.* 18:513-718

Mach, M., Kropff, B., Dal Monte, P., Britt, W. (2000). Complex formation by human cytomegalovirus glycoproteins M (gpUL100) and N (gpUL73). *Journal of Virology*, 74(24), 11881-11892.

Malm, G. and Engman, M. (2007). Congenital cytomegalovirus infections. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 12(3), 154-159.

Manuel, O., Husain, S., Kumar, D., Zayas, C., Mawhorter, S., Levi, M., Kalpoe, J., Lisboa, L., Ely, L., Kaul, D., Schwartz, B., Morris, M., Ison, M., Yen-Lieberman, B., Sebastian, A., Assi, M., Humar, A. (2012). Assessment of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity for the prediction of cytomegalovirus disease in high-risk solid-organ transplant recipients: A Multicenter Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*, 56(6), 817-824.

Mazzulli, T., Drew, L., Yen-Lieberman, B., Jekic-McMullen, D., Kohn, D., Isada, C. (1999). Multicenter comparison of the digene hybrid capture CMV DNA assay (Version 2.0), the pp65 Antigenemia assay, and cell culture for detection of cytomegalovirus viremia. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(7), 958-963.

McLaughlin-Taylor, E., Pande, H., Forman, S., Tanamachi, B., Li, C., Zaia, J., Greenberg, P., Riddell, S. (1994). Identification of the major late human cytomegalovirus matrix protein pp65 as a target antigen for CD8⁺ virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *J. Med. Virol.*, 43(1), 103-110.

Melnik, L., Garry, R., Morris, C. (2011). Peptide inhibition of human cytomegalovirus infection. *Virology Journal*, 8(1), 76.

Meyer-König, U., Vogelberg, C., Bongarts, A., Kampa, D., Delbrück, R., Wolff-Vorbeck, G., Kirste, G., Haberland, M., Hufert, F., von Laer, D. (1998). Glycoprotein B genotype correlates with cell tropism in vivo of human cytomegalovirus infection. *Journal of Medical Virology*, 55(1), 75-81.

Michaelis, M., Doerr, HW., Cinatl, J. (2009). The Story of Human Cytomegalovirus and cancer: Increasing evidence and open questions. *Neoplasia*, 11(1), 1-9

Milne, R., Paterson, D., Booth, J. (1998). Human cytomegalovirus glycoprotein H/glycoprotein L complex modulates fusion-from-without. *Journal of General Virology*, 79(4), 855-865.

Mocarski, E.S., Jr., Courcella C.T. (2001). Cytomegalovirus and their replication. İçinde: Knipe DM., Howley PM., Griffin DE. Ed. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins; 2629-2673

Mocarski, E.S., Shenk T, Pass RF: Cytomegaloviruses. (2007). In *Fields Virology*. 5 edition. İçinde: Knipe DM, Howley PM. Philadelphia, PA: Lippincott Williams 2701-2772.

Mohamed, HT., El-Shinawi, M., Nouh, MA., Bashtar, AR., Elsayed, T., Scheider, RJ., Mohamed, MM. (2009). İnflammatory breast cancer: high incidence of deection of mixed genotypes associated with disease pathogenesis. *Frontiers of Oncology*.

Nassetta, L., Kimberlin, D., Whitley, R. (2009). Treatment of congenital cytomegalovirus infection: implications for future therapeutic strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(5), 862-867.

Nassikas, M., Tsaples, G. (2013). Epidemiology of Cytomegalovirus. *Paper for the 31st International Conference of the System Dynamics Society Cambridge*.

Nguyen, N., Loveland, A., Gibson, W. (2008). Nuclear localization sequences in cytomegalovirus capsid assembly proteins (UL80 Proteins) are required for virus production: Inactivating NLS1, NLS2, or both affects replication to strikingly different extents. *Journal of Virology*, 82(11), 5381-5389.

Nogueira, E., Ozaki, K.S., Tomiyama H., Câmara, N.O.S., Granato, C.F.H. (2009). Clinical correlations of human cytomegalovirus strains and viral load in kidney transplant recipients. *International Immunopharmacology* 9, 26–31

Novak, Z., Ross, S., Patro, R., Pati, S., Kumbla, R., Brice, S., Boppana, S. (2008). Cytomegalovirus strain diversity in seropositive women. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(3), 882-886.

Nigro, G. ve Adler, S. (2011). Cytomegalovirus infections during pregnancy. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 23(2), 123-128

Pacsa, A., Essa, S., Voevodin, A., El-Shazly, A., Kazak, H., Nampoory, M. (2003). Correlation between CMV genotypes, multiple infections with herpesviruses (HHV-6, 7) and development of CMV disease in kidney recipients in Kuwait. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 35, 125-130.

Pang, X., Humar, A., Preiksaitis, J. (2008). Concurrent genotyping and quantitation of cytomegalovirus gB genotypes in solid-organ-transplant recipients by use of a Real-Time PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(12), 4004-4010.

Paradowska, E., Studzinska, M., Suski, P., Kasztelewicz, B., Wi sniewska-Ligier, M., Zawilinska, B., Gaj, Z., Nowakowska, D. (2015). Human cytomegalovirus UL55, UL144, and US28 genotype distribution in infants infected congenitally or postnatally. *Journal of Medical Virology* 87:1737–1748

Park, J., Kim, D., Kim, J., Park, C., Hwang, E., Cha, C. (2000). Little role of anti-gB antibodies in neutralizing activity of patient's sera with human cytomegalovirus (HCMV) infection. *Journal of Korean Medical Science*, 15(2), 133.

Peek, R., Verbraak, F., Bruinenberg, M., Van der Lelij, A., Van den Horn, G. ve Kijlstra, A. (1998). Cytomegalovirus glycoprotein B genotyping in ocular fluids and blood of AIDS patients with cytomegalovirus retinitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 39(7), 1183-1187.

Picone, O., Costa, J.M., Leurez-Ville, M., Ernault, P., Olivi, M., Viller, Y. (2004). Cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B genotype and CMV DNA load in the amniotic fluid of infected fetuses. *Prenat Diag* 24: 1001-1006

Pignatelli, S., Landini, M., Dal Monte, P. (2001). gpUL73 (gN) genomic variants of human cytomegalovirus isolates are clustered into four distinct genotypes. *Journal of General Virology*, 82(11), 2777-2784.

Pignatelli, S., Dal Monte, P. (2009). Epidemiology of human cytomegalovirus strains through comparison of methodological approaches to explore gN variants. *New Microbiologica*, 1-10

Plafker, S., Gibson, W. (1998). Cytomegalovirus assembly protein precursor and proteinase precursor contain two nuclear localization signals that mediate their own nuclear translocation and that of the major capsid protein. *Journal of Virology*, 72(10), 7722-7732.

Preece, P., Blount, J., Glover, J., Fletcher, G., Peckham, C., Griffiths, P. (1983). The consequences of primary cytomegalovirus infection in pregnancy. *Archives of Disease in Childhood*, 58(12), 970-975.

Puchhammer-Stöckl, E., Görzer, I., Zoufaly, A., Jaksch, P., Baurer, C., Klepetko, W., Popow-Kraupp, T. (2006). Emergence of multiple cytomegalovirus strains in blood and lung of lung transplant recipients. *Transplantation*, 81(2), 187-194

Ptvan den Berg, A., Klompmaker, I., Haagsma, E., Scholten-Sampson, A., Bijleveld, C., Schirm, J., ptvan der Giessen, M., Slooff, M., The, T. (1991). Antigenemia in the diagnosis and monitoring of active cytomegalovirus infection after liver transplantation. *Journal of Infectious Diseases*, 164(2), 265-270.

Rafailidis, P., Mourtzoukou, E., Varbobitis, I., Falagas, M. (2008). Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology Journal*, 5(1), 47.

Rasmussen, L., Geissler, A., Winters, M. (2003). Inter- and Intragenic Variations Complicate the Molecular Epidemiology of Human Cytomegalovirus. *The Journal of Infectious Diseases*, 187(5), 809-819.

Razonable, R., Brown, R., Wilson, J., Groettum, C., Kremers, W., Espy, M., Smith, T., Paya, C. (2002). The clinical use of various blood compartments for cytomegalovirus (CMV) DNA quantitation in transplant recipients with CMV disease. *Transplantation*, 73(6), 968-973.

Razonable, R., Emery, V. (2004). Management of CMV infection and disease in transplant patients. *Herpes: the journal of the IHMF*, 11(3), 77-86.

Rawlinson, W., Barrell, B. (1993). Spliced transcripts of human cytomegalovirus. *Journal of Virology*, 67(3), 5502-5513.

Revello, M., Gerna, G. (2002). Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4), 680-715.

Ribbert, H. (1883). Ueber resorption von Wasser in der Marksubstanz der Niere. *Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin*, 93(1), 169-176.

Riley H.D. History of cytomegalovirus. (1997) *Southern Medical Journal* 90(2):184-90. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9042169>

Roizen, N. (2003). Nongenetic causes of hearing loss. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 9(2), pp.120-127.

Roizman, B., Furlong, D. (1974). The replication of herpesviruses. İçinde: Fraenkel-Conrat, H.; Wagner, R., (Ed.). *Comprehensive Virology*. Plenum Press; New York.: 229-403.

Rosen, H.R., Corless, C.L., Rabkin, J., Chou, S. (1998). Association of cytomegalovirus genotype with graft rejection after liver transplantation. *Transplantation*, 66(12):1627-31.

Ross, S., Novak, Z., Pati, S., Boppana, S. (2011). Diagnosis of cytomegalovirus infections. *Infectious Disorders- Drug Targets*, 11(5): 466–474.

Rota, S. (2010). Pyrosequencing (Pyrosekanslama) ve prensipleri ‘Klinik Mikrobiyolojide Pyrosekans Uygulama Kursu’ kitabında s.79-90, Ankara

Roubalova, K., Strunecky, O., Zufanova, S., Vitek, A. (2010). Genotyping of viral glycoprotein B (gB) in hematopoietic stem cell transplant recipients with active cytomegalovirus infection: analysis of the impact of gB genotypes on the patients' outcome. *Epidemiologie Mikrobiologie Immunologi*, 59(2), 92-99.

Rowe, W.P., Hartley, J.W., Waterman, S. (1956). Cytopathogenic agents resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 92:418-424.

Ruiz, S.A., Castillo, L.T., Visona, K., Luftig, R.B., Uribe, L.H. (2004). Determination of human cytomegalovirus genetic diversity in different patient populations in Costa Rica. *Scientific electronic library online*.

Ryner, M., Strömberg, J., Söderberg-Nauclér, C., Homman-Loudiyi, M. (2006). *Virology Journal*, 3(1), 57.

Sampaio, A., Thomasini, R., Guardia, A., Stucchi, R., Rossi, C., Costa, S., Boin, I. (2011). Cytomegalovirus, Human Herpesvirus-6, and Human Herpesvirus-7 in adult liver transplant recipients: Diagnosis based on antigenemia. *Transplantation Proceedings*, 43(4), 1357-1359.

Sarcinella, L., Mazzulli, T., Willey, B., Humar, A. (2002). Cytomegalovirus glycoprotein B genotype does not correlate with outcomes in liver transplant patients. *Journal of Clinical Virology*, 24(1-2), 99-105.

Schleiss, M. (2008). Comparison of vaccine strategies against congenital CMV infection in the guinea pig model. *Journal of Clinical Virology*, 41(3), 224-230.

Seo, J., Britt, W. (2007). Cytoplasmic Envelopment of Human Cytomegalovirus Requires the Postlocalization Function of Tegument Protein pp28 within the Assembly Compartment. *Journal of Virology*, 81(12), 6536-6547.

Shepp, D., Match, M., Ashraf, A., Lipson, S., Millan, C., Pergolizzi, R. (1996). Cytomegalovirus glycoprotein B groups associated with retinitis in AIDS. *Journal of Infectious Diseases*, 174(1), 184-187.

Shimamura, M., Mach, M., Britt, W. (2006). Human cytomegalovirus infection elicits a glycoprotein M (gM)/gN-specific virus-neutralizing antibody response. *Journal of Virology*, 80(9), 4591-4600.

Sia, I., Patel, R. (2000). New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipients. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1), 83-121.

Sijmons, S., Van Ranst, M., Maes, P. (2014). Genomic and functional characteristics of human cytomegalovirus revealed by next-generation sequencing. *Viruses*, 6(3), 1049-1072.

Simmen, K., Singh, J., Luukkonen, B., Lopper, M., Bittner, A., Miller, N., Jackson, M., Compton, T., Fruh, K. (2001). Global modulation of cellular transcription by human cytomegalovirus is initiated by viral glycoprotein B. *Proceedings of the National*

Smith, M.G. (1956). Propagation in tissue cultures of a cytopathogenic virus from human salivary gland virus (SVG) disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 92:424-430

Smith, R., Kosuri, S., Kerry, J. (2014). Role of human cytomegalovirus tegument proteins in virion assembly. *Viruses*, 6(2), 582-605.

Soroceanu, L., Akhavan, A., Cobbs, C. (2008). Platelet-derived growth factor- α receptor activation is required for human cytomegalovirus infection. *Nature*, 455(7211), 391-395.

Söderberg-Naucler, C. (2008). HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer. *Journal of Clinical Virology*, 41:218-223

Söyletir, G. (2002). Herpes virusların Genel Özellikleri. İçinde: Topçu WA, Doğanay M(eds), Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul: 2002;1174-1176.

Steininger, C., Schmied, B., Sarcletti, M., Geit, M., Puchhammer-Stöckl, E. (2005). Cytomegalovirus genotypes present in cerebrospinal fluid of HIV-infected patients. *AIDS* 2005, 19:273–278

Sung, H., Schleiss, M. (2010). Update on the current status of cytomegalovirus vaccines. *Expert Review of Vaccines*, 9(11), 1303-1314

Şahiner, F., Çekmez, F., Cetinkaya, M., Kaya, G., Kalayci, T., Gunes, O., Sener, K., Yapar, M., Tunc, T., Ecemis, T., Çekmez, Y., Kubar, A. (2015) Congenital cytomegalovirus infections and glycoprotein B genotypes in live-born infants: a prevalence study in Turkey. *Infectious Diseases*, 2015; 47: 465–471

Tandon, R., Mocarski, E. (2011). Cytomegalovirus pUL96 is critical for the stability of pp150-associated nucleocapsids. *Journal of Virology*, 85(14), 7129-7141.

Tandon, R., Mocarski, E., Conway, J. (2015). The A, B, Cs of Herpesvirus capsids. *Viruses*, 7(3), 899-914.

Tang, N., Li, JW., Liu, YM., Zhong, H., Wang, LM., Deng FM., Qu, YY., Hui, J., Cheng, J., Tang, B., Huang, G., Guo, SX., Li XZ., Li, XZ., Wei, LL., He, F. (2014) Human cytomegalovirus infection is associated with essential hypertension in Kazakh and Han Chinese populations. *Medical Science Monitor*, 20:2508-2519

Tanaka, K., Numazaki, K., Tsutsumi, H. (2005). Human cytomegalovirus genetic variability in strains isolated from Japanese children during 1983-2003. *Journal of Medical Virology*, 76:356-360

Tarrago, D., Quereda, C., Tenorio, A. (2003). Different cytomegalovirus glycoprotein B genotype distribution in serum and cerebrospinal fluid specimens

determined by a Novel Multiplex Nested PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(7), 2872-2877.

Tezer, H., Seçmeer G. (2007). Sitomegalovirus infeksiyonları. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 38, 7-9

Theiler, R., Compton, T. (2002). Distinct glycoprotein O complexes arise in a post-golgi compartment of cytomegalovirus –infected cells. *Journal of Virology*, 76(6), 2890-2898

Thomsen, D., Stenberg, R., Goins, W., Stinski, M. (1984). Promoter-regulatory region of the major immediate early gene of human cytomegalovirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(3), 659-663.

Tomtishen III, J. (2012). Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virology Journal*, 9(1), 22.

Torok-Storb, B., Boeckh, M., Hoy, C., Leisenring, W., Myerson, D., Gooley, T. (1997). Association of specific cytomegalovirus genotypes with death from myelosuppression after marrow transplantation. *Blood Journal*, 90(5), 2097-2102.

Trincado, D., Scott, G., White, P., Hunt, C., Rasmussen, L., Rawlinson, W. (2000). Human cytomegalovirus strains associated with congenital and perinatal infections. *J. Med. Virol.*, 61(4), 481-487.

Tugizov, S., Wang, Y., Qadri, I., Navarro, D., Maidji, E., Pereira, L. (1995). Mutated forms of human cytomegalovirus glycoprotein B are impaired in inducing syncytium formation. *Virology*, 209(2), 580-591.

Ustaçelebi, S. (2001). CMV'nin özellikleri ve epidemiyolojisi. 1. Ulusal CMV Sempozyumu Tanı ve Tedavi Yaklaşımları: Sorunlar ve Çözümleri Kitabında. Antalya 2001; 9-18

Vanarsdall, A., Chase, M., Johnson, D. (2011). Human cytomegalovirus glycoprotein gO complexes with gH/gL, promoting interference with viral entry into human fibroblasts but not entry into epithelial cells. *Journal of Virology*, 85(22), 11638-11645.

Van der Bij, W., Speich, R. (2001). Management of cytomegalovirus infection and disease after solid-organ transplantation. *Clinical Infectious Diseases*, 33(s1), S32-S37.

Varnum, S., Streblow, D., Monroe, M., Smith, P., Auberry, K., Pasa-Tolic, L., Wang, D., Camp, D., Rodland, K., Wiley, S., Britt, W., Shenk, T., Smith, R., Nelson, J. (2004). Identification of proteins in human cytomegalovirus (HCMV) particles: the HCMV proteome. *Journal of Virology*, 78(23), pp.13395-13395.

Vilas Boas, L., Ueda F. de Souza, V., Penalva de Oliveira, A., Rodriguez Viso, A., Nascimento Filho, A., Nascimento, M., Pannuti, C. (2003). Cytomegalovirus glycoprotein B genotypes and central nervous system disease in AIDS patients. *Journal of Medical Virology*, 71(3), 404-407.

Vogelberg, C., Meyer-König, U., Hufert, F., Kirste, G., von Laer, D. (1996). Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in renal transplant recipients. *Journal of Medical Virology*, 50(1), 31-34.

Von Glahn, W.C., Pappenheimer, A.M. (1925). Intranuclear inclusions in visceral disease. *American Journal of Pathology*, 1:445-465

Wang, D., Shenk, T. (2005). Human cytomegalovirus virion protein complex required for epithelial and endothelial cell tropism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 18153-18158.

Wang, X., Huang, D., Huong, S., Huang, E. (2005). Integrin $\alpha v \beta 3$ is a coreceptor for human cytomegalovirus. *Nature Medicine*, 11(5), 515-521.

Weller, T.H., Macauley, J.C., Craig, J.M., Wirth, P. (1957). Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 94:4-12

Witt, D., Kemper, M., Stead, A. 2000). Analytical performance and clinical utility of a nucleic acid sequence-based amplification assay for detection of cytomegalovirus infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 3994–3999.

Woo, P., Lo, C., Lo, S., Siau, H., Peiris, J., Wong, S. (1997). Distinct genotypic distributions of cytomegalovirus (CMV) envelope glycoprotein in bone marrow and

renal transplant recipients with CMV disease. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 4(5), 515-518.

Wyatt, J.P., Saxton, J., Lee, R.S., Pinkerton, H. (1950). Generalized cytomegalic inclusion disease. *Journal of Pediatrics*, 36:271-294

Wu, X.J., Wu, D.P., Sun, A.N., Ma, X., Chang, G.R., Zhu, Z.L. (2005). A study of cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B genotypes in patients with CMV infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Zhonghua nei ke za zhi*, 44(4):290-292

Wu, X., Wang, Y., Xu, Y., Wu, D., Sun, A., Zhu, Z., Han, Y., Qiu, H., Tang, X., Fu, Z., He, G., Li, C., Ma, X., Liu, Y. (2010). Cytomegalovirus glycoprotein B genotype in hematopoietic stem cell transplant patients from China. *Biol Blood Marrow Transplant*, 16:647-652

Wreghitt, T., Teare, E., Sule, O., Devi, R. ve Rice, P. (2003). Cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clinical Infectious Diseases*, 37(12), 1603-1606.

Yan, H., Koyano, S., Inami, Y., Yamamoto, Y., Suzutani, T., Mizuguchi, M., Ushijima, H., Kurane, I., Inoue, N. (2008). Genetic variations in the gB, UL144 and UL149 genes of human cytomegalovirus strains collected from congenitally and postnatally infected Japanese children. *Arch Virol*, 153(4), 667-674.

Yan, X.C., Wang, J.H., Wang, B., Huang, L.L., Zhou, L.Q., Zhu, B., Liang, Y. (2016). Study of Human Cytomegalovirus replication in body fluids, placental infection, and miscarriage during the first trimester of pregnancy. *Journal of medical microbiology*, 87:1046-1053

Yamamoto, A.Y., Mussi-Pinhata, M.M., de Deus Wagatsuma, V.M., Marin, L.J., Duarte, G., Figueiredo, L.T. (2007) Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in Brazilian mothers and their congenitally infected infants. *Journal of Medical Virology* 79:1164–1168

Yu, X., Shah, S., Atanasov, I., Lo, P., Liu, F., Britt, W., Zhou, Z. (2004). Three-dimensional localization of the smallest capsid protein in the human cytomegalovirus capsid. *Journal of Virology*, 79(2), 1327-1332.

Yu, Z., Zou, C., Zheng, J., Zhao, Z. (2006). Cytomegalovirus gB genotype and clinical features in Chinese infants with congenital infections. *Intervirology*, 49(5), 281-285.

Zawilinska, B., Szostek, S., Kopec, J., Piatkowska-Jakubas, B., Kosz-Vnenchak, M. (2015). Multiplex real-time PCR to identify a possible reinfection with different strains of human cytomegalovirus in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Acta Biochimica Polonica*, 63(1), 161–166

Zhou, L., Fan, J., Zheng, S., Ma, W. (2007). Genetic variation within the glycoprotein B and H genes of human cytomegalovirus in solid organ transplant recipients. *Transplant Infect Dis*, 9(1), 73-77.



HAM VERİLER

>Merlin_Gt1

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>M60927_Gt1

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAAGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTGGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCTAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAAATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>M60929_Gt1

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGTGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA

GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>M60931_Gt2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>AD169_Gt2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>AC146907_Gt3

CACTTTTCTTCTGCTAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTGCGTTTTTGAACACAGGCGGTCTGGTGGTGTCTTTGGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAAGTGAACGTTTGGCCAATAGCTC
CGGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCAC
CCTGTCGCTTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTGCAG

TTCACCTATGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGTTGGCGCAGATCG
CCGAGG

>M85228_Gt3

CACTTTTCTTCTGCTAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTTCGGTTTTTGAACCACAGGCGGTCTGGTGGTGTTCGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAACGGAACGTTTGGCCAATAGCTC
CGGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCAC
CCTGTCGCTTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTGCAG
TTCACCTATGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGTTGGCGCAGATCG
CCGAGG

>M60926_Gt4

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCTACTTTCCTGTCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGATTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTCTA
AATAAGTTACAGCAGATTTTTTAATGCTTCATACAATCAGACATATGAAAAGT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACTACCGGCGGACTAGTAGTGTTCGCG
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGTT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAGTAGAACCAGAAGAAGTACAGATGGCACCA
ATGTAACCTCATTTATCTAATATGGACTCGGTACACAATCTGGTCTACGCCA
GCTGCAGTTCACCTACGACACGTTGCGCGGCTACATCAACCGGGCGTTGAC
ACAAATCGCAGAAG

>AF043721_Gt5

CATTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTACGTGATCAGGCTCTGA
ATAAGTTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTTCGGTCTTCGAAACCACAGGCGGTCTGGTGGTGTTCGCG
AAGGTATCAAGCAGAAATCTCTGTTGGAATTAGAACGTTTAGCCAATAGCT
CTGGTGTAAACGCTACGCGTAGAAGCAAGAGAAGCACAAACAATACGACT
ACCCTATCGCTGGAGAACGATTTCGGTACGAAGTGTGCTCTACGCCAGCTG

CAGTTTACCTACGACACGTTGCGCAACTACATTAACCGGGCGCTGGCACAG
ATCGCCGAAG

>N_22_korn

CCCTTTTCTTCTGCTAAAATGACCGCCACTTTTTTATCTAAGAAACAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTTTTTGAAAACCACTGGTGGTTTGGTGGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAACCTGGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAACAACCAAAGTACTGCAGATGGCACCA
CTGCATCTCATTTATCCAACTTGAATCAGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCACTTCAACTATTACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCG
CACATCGCAGAAG

>N_18_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
AAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCWGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAA

>N_19_Plz2

CACTTTTTTTTTTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT

GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N_17_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
AGGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAAGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTGTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTGGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCTAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAAATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_16_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
AGGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAAGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTGTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTGGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCTAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAAATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_15_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT

GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N_12_Plz2

CACTTTTTTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTTTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N_10_Plz2

CACTTTTTTTTTTGCCAAAATGACCGCTACTTTCCCGTTTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGATTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTCTA
AATAAGTTACAGCAGATTTTTAATGCTTCATACAATCAGACATATGAAAAGT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACTACCCGCGGACTAGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGTT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAGTAGAACCAGAAGAAGTACAGATGGCACCA
ATGTAACCTCATTTATCTAATATGGACTCGGTACACAATCTGGTCTACGCCA
GCTGCAGTTCACCTACGACACGTTGCGCGGCTACATCAACCGGGCGTTGAC
ACAAATCGCAGAAG

>N_09_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGTGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCA

GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_07_Plz2

CACTTTTCTTCTGCTAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTTCGGTTTTTTGAAACCACAGGCGGTCTGGTGGTGTTCGGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAACCTGGAACGTTTGGCCAATAGCTC
CGGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCAC
CCTGTCGCTTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTGCAG
TTCACCTATGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGCTGGCGCAGATCG
CCGAGG

>N_06_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTAATATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TACGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCAAAGGTGGTTTGGTAGTGTTCGGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTTTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACAGGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_05_Plz2

CACTTTTCTTATGCTAAAATGACTGCAACTTTTCGGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTTGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTTCGGTTTTTTGAAACCACCGGCGGTCTGGTGGTGTTCGGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAACCTGGAACGTTTGGCCAACAGTTC
CGGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCAC
CCTGTCGCTTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTG

CAGTTCACCTTGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGTTGGCGCAGAT
CGCCGAGG

>N_02_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N_01_Plz2

CACTTTTCTTCTGCCGGAGCGCCGACGGCCCTTTCCTGTCTTATACCA
TGAGCTGAGATGTCCTACTCCTCGCTGGACAGCGTACGTGATGAGGCTATCA
ATAGGTTACAGCCTATTTTCAATACCTCTTATAATCAAACATATGAAAAATA
AGGAAACGTGTCCGTCTTAGAAACCAGTGGCGGTCTGGTGGTGTTCGGCA
AGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGCTC
CAGTATGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATAC
AACTCATTTGTCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCTG
CAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAATCGGGCGCTGGCGCAA
ATCGCAGAAG

>N 01 Bio

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTAGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA

GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 02 Korn

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 05 Korn

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTATCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAAGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTGTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTGGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCTAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAAATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 06 Korn

CCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT

GCAGTTCACCTTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N 07 Korn

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTT

>N 08 Plz

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTAGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 09 BAL

CCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N 11 bio

TCTTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAAAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAAATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAATTACAAATGGCAACA
ATGCACCTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACCCCCA
GCTGCATTTACCTATAACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGGCGC

>N 12 bio

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N 13 bio

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAACTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAAT
ATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCTC
CAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACAA
TGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAG
CTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGGCGCTGGCGC
AAATCGCAGAAG

>N 14 bio

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCTACTTTCCTGTCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGATTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTCTA
AATAAGTTACAGCAGATTTTTAATGCTTCATACAATCAGACATATGAAAAGT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACTACCGGCGGACTAGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGTT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAGTAGAACCAGAAGAAGTACAGATGGCACCA
ATGTAACCTCATTTATCTAATATGGACTCGGTACACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTACGACACGTTGCGCGGCTACATCAACCGGGCGTTGAC
ACAAATCGCAGAAG

>N 16 plz

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGCTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 17 bio

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 18 bio

CCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAACAAG
AGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCCATAAA
TAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAATAC
GGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGCAA
GGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGATCC
AGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATACA
ACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCTG
CAGTTCACCTTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCAA
ATCGCAGACG

>N 19 korn

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 20 bio

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCTACTTTCTGTCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGATTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTCTA
AATAAGTTACAGCAGATTTTTAATGCTTCATACAATCAGACATATGAAAAGT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACTACCGGCGGACTAGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGTT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAGTAGAACCAGAAGAAGTACAGATGGCACCA
ATGTAACCTCATTTATCTAATATGGACTCGGTACACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTACGACACGTTGCGCGGCTACATCAACCGGGCGTTGAC
ACAAATCGCAGAAG

>N 21 BOS

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCTACTTTCCTGTCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGATTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTCTA
AATAAGTTACAGCAGATTTTTAATACTTCATACAATCAGACATATGAAAAGT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACTACCGGCGGACTAGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGTT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAGTAGAACCAGAAGAAGTACAGATGGCACCA
ATGTAACCTCATTTATCTAATATGGACTCGGTACACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTACGACACGTTGCGCGGCTACATCAACCGGGCGTTAAC
ACAAATCGCAGAAG

>N 24 Bio

CCCTTTTCTTCTGCTAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTTCGGTTTTTGAACCACAGGCGGTCTGGTGGTGTTCGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAACCTGGAACGTTTGGCCAATAGCTC
CGGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCAC
CCTGTCGCTTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTG
CAGTTCACCTATGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGTTGGCGCAG
ATCGCCGAGG

>N 26 BAL

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACGTGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 28 idr

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 29 idr

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N 116 Plz

CCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACAGCAACTTTTCTGTCTAAGAAGCAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N 121 Plz

CCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGCGGTCTGGTGGTGTCTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N 122 Plz

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCTACTTTCCTGTCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGATTCCGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTCTA
AATAAGTTACAGCAGATTTTTAATGCTTCATACAATCAGACATATGAAAAGT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACTACCGGCGGACTAGTAGTGTCTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGTT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAGTAGAACCAGAAGAAGTACAGATGGCACCA
ATGTAACCTCATTTATCTAATATGGACTCGGTACACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTACGACACGTTGCGCGGCTACATCAACCGGGCGTTGAC
ACAAATCGCAGAAG

>N 125 Plz

CACTTTTCTTCTGCTAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCATGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTCTGGTTTTTGAACCACAGGCGGTCTGGTGGTGTCTCTGGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATAGCTCC
GGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCACC
CTGTCTGCCTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTGCAGT
TCACCTATGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGTTGGCGCAGATCGC
CGAGG

>N_93_Co

CACTTTTCTTCTGCTAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACCCCGTGTTGGATTGTGTGCGTGATCAGGCTCTAA
ATAAGCTACAACAGATCTTCAACGCCTCGTACAATCAAACATACGAAAAGT
ACGGTAACGTGTCGGTTTTTTGAAACCACAGGCGGTCTGGTGGTGTTCCTGGCA
AGGTATCAAGCAAAAATCTTTGTTGGAACCTGGAACGTTTGGCCAATAGCTC
CGGTGTGAACTCCACGCGTAGAACCAAGAGAAGTACGGGCAATACGACCAC
CCTGTCGCTTGAAAGCGAATCTGTACGAAATGTGCTCTACGCTCAGCTGCAG
TTCACCTATGATACGTTGCGCAGCTACATCAATCGGGCGTTGGCGCAGATCG
CAGAGG

>N_76_Co

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGGCGGTCTGGTGGTGTTCCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAG

>N_60_Co

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAAAAG

>N_64_Co

CCTTTTCTTCTGCCAAAATGACTGCAACTTTTCTGTCTAAGAAACAA
GAAGTGAACATGTCCGACTCCGCGCTAGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATATAATCAAACATATGAAAAAT
ACGGAAACGTGTCCGTCTTCGAAACCAGCGCGGTCTGGTGGTGTCTGGC
AAGGCATCAAGCAAAAATCTTTGGTGGAATTGGAACGTTTGGCCAATCGAT
CCAGTCTGAATATCACTCATAGGACCAGAAGAAGTACGAGTGACAATAATA
CAACTCATTTGTCCAGCATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCAGCT
GCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGCGCA
AATCGCAGAAA

>N_58_Co

CACTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_42_Co

CACTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_39_Co

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCCATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATGCTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTGGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAGTCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_03_Co

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTAGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG

>N_106_Plz

TCCTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTGGAACCTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACC AAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAATCGCAGAAG

>N_08_idr

CACTTTTCTTCTGCCAAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAA
GAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTGATGAGGCTATA
AATAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAATCAAACATATGAAAAA
TATGGAAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTTGGTAGTGTTCTGGC
AAGGTATCAAGCAAAAATCTCTGGTAGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCT
CCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAAGAAGTACAGATGGCAACA
ATGCAACTCATTATCCAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCCA
GCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTTACATCAACCGGGCGCTGGC
GCAAATCGCAGAAG



```

      10      20      30      40      50      60      70      80
Merlin_Gt1 CACTTTTCTTCTGCCAAATGACCGCCACTTTCTTATCTAAGAAGCAAGAGGTGAACATGTCCGACTCTGCGCTGGACTGCGTACGTG
M60927_Gt1 .....
M60929_Gt1 .....T.....
N_26_BAL TC.....
N_106_Plz TC.....
N_03_Co TC.....
N_19_korn TC.....
N_17_bio TC.....
N_22_korn .C.....T.....T.....A.....
N_11_bio TCT.....A.....
N_07_Korn .....
N_60_Co .....
N_08_idr .....
N_58_Co .....
N_08_Plz .....
N_05_Korn .....A.....
N_42_Co .....
N_13_bio .....
N_09_Plz2 .....T.....
N_01_Bio .....
N_28_idr .....
N_16_Plz2 .....AG.....
N_17_Plz2 .....AG.....
N_02_Korn .....
N_29_idr .....
N_16_plz .....
N_06_Plz2 .....AA.....
N_39_Co .....
M60931_Gt2 .....T..A...TC.G...A...A...C...A...
AD169_Gt2 .....T..A...TC.G...A...A...C...
N_01_Plz2 .....GG.GC.C.GA.GG.CC.T.CC.G.CTT.TA.C.TGA.CTG.G...T...CT...A...
N_19_Plz2 .....T..T...T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_15_Plz2 .....T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_12_Plz2 .....T...T...TC.G.T...A...A...C...
N_02_Plz2 .....T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_09_BAL .C.....T..A...TC.G...A...A...C...
N_06_Korn .C.....T..A...TC.G...A...A...C...
N_12_bio .....T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_18_bio .C.....T..A...TC.G...A...A...C...
N_116_Plz .C.....A..A...TC.G...A...A...C...A...
N_121_Plz .C.....T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_76_Co .....T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_64_Co .CT.....T..A...TC.G...A...A...C...A...
N_18_Plz2 .....T..A...TC.G...A...A...C...A...
M85228_Gt3 .....T...T..A...TC.G...A...A...C.C.T.T...T..T..G...
AC146907_Gt3 .....T...T..A...TC.G...A...A...C.C.T.T...T..T..G...
N_07_Plz2 .....T...T..A...TC.G...A...A...C.C.T.T...T..T..G...
N_05_Plz2 .....A..T...T..A...TCGG...A...A...C.C.T.T...T..T..G...
N_24_Bio .C.....T...T..A...TC.G...A...A...C.C.T.T...T..T..G...
N_125_Plz .....T...T..A...TC.G...A...A...C.CAT.T...T..T..G...
N_93_Co .....T...T..A...TC.G...A...A...C.C.T.T...T..T..G...
M60926_Gt4 .....T...C.G...T..C...
N_21_BOS TC.....T...C.G...T..C...
N_10_Plz2 .....T..T...T...CCG.T...T..C...
N_14_bio TC.....T...C.G...T..C...
N_20_bio TC.....T...C.G...T..C...
N_122_Plz TC.....T...C.G...T..C...
AF043721_Gt5 .T.....T..A...TC.G...A...A...C.C.T.T...T..T...

```

```

      110      120      130      140      150      160      170      180
Merlin_Gt1  ATAAAGTTACAGCAGATTTTCAATACTTCATACAAATCAAACATATGAAAAATATGGAACGTGTCCGTCTTTGAAACCACTGGTGGTTT
M60927_Gt1  .....
M60929_Gt1  .....
N_26_BAL    .....
N_106_Plz   .....
N_03_Co     .....
N_19_korn   .....
N_17_bio    .....
N_22_korn   .....T.....
N_11_bio    .....A.....
N_07_Korn   .....
N_60_Co     .....
N_08_idr    .....
N_58_Co     .....
N_08_Plz    .....
N_05_Korn   .....G.....
N_42_Co     .....
N_13_bio    .....C.....
N_09_Plz2   .....
N_01_Bio    .....
N_28_idr    .....
N_16_Plz2   .....G.....
N_17_Plz2   .....G.....
N_02_Korn   .....
N_29_idr    .....
N_16_plz    .....C.....
N_06_Plz2   .....C.....AA.....
N_39_Co     .....G.....
M60931_Gt2  .....T.....C.....C.....GC..C..C..
AD169_Gt2   .....C.....C.....C.....GC..C..C..
N_01_Plz2   .....G.....CT.....C..T..T.....A.....A.....G.....C.....C.....
N_19_Plz2   .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_15_Plz2   .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_12_Plz2   .....C.....C.....C.....GC..C..C..
N_02_Plz2   .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_09_BAL    .....C.....C.....GC..C..C..
N_06_Korn   .....C.....C.....GC..C..C..
N_12_bio    .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_18_bio    .....C.....C.....GC..C..C..
N_116_Plz   .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_121_Plz   .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_76_Co     .....C.....C.....GC..C..C..
N_64_Co     .....T.....C.....C.....GC..C..C..
N_18_Plz2   .....T.....C.....C.....GC..C..C..
M85228_Gt3  .....C...A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G..T...A...C...C...
AC146907_Gt3.....C...A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G..T...A...C...C...
N_07_Plz2   .....C...A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G..T...A...C...C...
N_05_Plz2   .....C...A...C...CG.C.TG...C...G..C..T...G..T...C...C...C...
N_24_Bio    .....C...A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G..T...A...C...C...
N_125_Plz   .....C...A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G..T...A...C...C...
N_93_Co     .....C...A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G..T...A...C...C...
M60926_Gt4  .....T...G...G...G..C...C...T...C...C..AC..
N_21_BOS    .....T...G...G...G..C...C...T...C...C..AC..
N_10_Plz2   .....T...G...G...G..C...C...T...CC.C..AC..
N_14_bio    .....T...G...G...G..C...C...T...C...C..AC..
N_20_bio    .....T...G...G...G..C...C...T...C...C..AC..
N_122_Plz   .....T...G...G...G..C...C...T...C...C..AC..
AF043721_Gt5.....A...C...CG.C..G...C...G..C..T...G...C...A...C...C...

```

```

      210      220      230      240      250      260      270      280
Merlin_Gt1  GCAAGGTATCAAGCAAAATCTCTGGTGGAACTCGAACGTTTGGCCAACCGCTCCAGTCTGAATCTTACTCATAATAGAACCAAAAGA
M60927_Gt1  .....T.....
M60929_Gt1  .....
N_26_BAL    .....
N_106_Plz   .....
N_03_Co     .....A.....
N_19_korn   .....
N_17_bio    .....
N_22_korn   .....T.....G.....C.....T
N_11_bio    .....
N_07_Korn   .....
N_60_Co     .....
N_08_idr    .....A.....
N_58_Co     .....
N_08_Plz    .....A.....
N_05_Korn   .....T.....
N_42_Co     .....
N_13_bio    .....
N_09_Plz2   .....
N_01_Bio    .....A.....
N_28_idr    .....
N_16_Plz2   .....T.....
N_17_Plz2   .....T.....
N_02_Korn   .....
N_29_idr    .....
N_16_plz    .....
N_06_Plz2   .....T.....
N_39_Co     .....
M60931_Gt2  .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
AD169_Gt2   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_01_Plz2   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_19_Plz2   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_15_Plz2   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_12_Plz2   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_02_Plz2   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_09_BAL    .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_06_Korn   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_12_bio    .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_18_bio    .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_116_Plz   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_121_Plz   .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_76_Co     .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_64_Co     .....C.....T.....T.G.....T.A.....A.C.....G...G...
N_18_Plz2   .....C.....T.....T.G.....T.A...W...A.C.....G...G...
M85228_Gt3  .....T...T...G.....TA...G...G...CTCC...G...G...
AC146907_Gt3 .....T...T...G.....TA...G...G...CTCC...G...G...
N_07_Plz2   .....T...T...G.....TA...G...G...CTCC...G...G...
N_05_Plz2   .....T...T...G.....A.T...G...G...CTCC...G...G...
N_24_Bio    .....T...T...G.....TA...G...G...CTCC...G...G...
N_125_Plz   .....T...T...T.G.....TA...G...G...CTCC...G...G...
N_93_Co     .....T...T...G.....TA...G...G...CTCC...G...G...
M60926_Gt4  .....T.....G.....G...
N_21_BOS    .....T.....G.....G...
N_10_Plz2   .....T.....G.....G...
N_14_bio    .....T.....G.....G...
N_20_bio    .....T.....G.....G...
N_122_Plz   .....T.....G.....G...
AF043721_Gt5 .....G.....T...T.A...A...TA...TG...G.A...CGC...G...G...

```

310 320 330 340 350 360 370 380

Merlin_Gt1 AACCAATGCAACTCATTATCCAAACATGGAATCGGTGCACAATCTGGTCTACGCCAGCTGCAGTTCACCTATGACACGTTGCGCGGTT

M60927_Gt1

M60929_Gt1

N_26_BAL . G.

N_106_Plz

N_03_Co

N_19_korn

N_17_bio

N_22_korn . C . C . . T . . . T . . . A C . . A . . T .

N_11_bio . . . C T A .

N_07_Korn

N_60_Co

N_08_idr

N_58_Co

N_08_Plz

N_05_Korn

N_42_Co

N_13_bio

N_09_Plz2

N_01_Bio

N_28_idr

N_16_Plz2

N_17_Plz2

N_02_Korn

N_29_idr

N_16_plz

N_06_Plz2 . G . . G .

N_39_Co

M60931_Gt2 . T . . A G . . G .

AD169_Gt2 . T . . A G . . G .

N_01_Plz2 . T . . A G . . G .

N_19_Plz2 . T . . A G . . G .

N_15_Plz2 . T . . A G . . G .

N_12_Plz2 . T . . A G . . G .

N_02_Plz2 . T . . A G . . G .

N_09_BAL . T . . A G . . G .

N_06_Korn . T . . A G . . G .

N_12_bio . T . . A G . . G .

N_18_bio . T . . A G . . G .

N_116_Plz . T . . A G . . G .

N_121_Plz . T . . A G . . G .

N_76_Co . T . . A G . . G .

N_64_Co . T . . A G . . G .

N_18_Plz2 . T . . A G . . G .

M85228_Gt3 . T . CGA . C . C . TG . CGCTTG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

AC146907_Gt3 . T . CGA . C . C . TG . CGCTTG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

N_07_Plz2 . T . CGA . C . C . TG . CGCTTG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

N_05_Plz2 . T . CGA . C . C . TG . CGCTTG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

N_24_Bio . T . CGA . C . C . TG . CGCTTG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

N_125_Plz . T . CGA . C . C . TG . CGC . TG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

N_93_Co . T . CGA . C . C . TG . CGCTTG . A . GC T . A . GA . . G . C . . . T T A . C .

M60926_Gt4 . C . . . T T . T . . . C . . A C C .

N_21_BOS . C . . . T T . T . . . C . . A C C .

N_10_Plz2 . C . . . T T . T . . . C . . A C C .

N_14_bio . C . . . T T . T . . . C . . A C C .

N_20_bio . C . . . T T . T . . . C . . A C C .

N_122_Plz . C . . . T T . T . . . C . . A C C .

AF043721_Gt5 . T . CGA . T . . C . TA . CGCTGG . G . AC T A . GA . G . G . C T C AAC

```

                                410      420
                                - - - - | - - - - | - - - - | -
Merlin_Gt1      CGCTGGCGCAAATCGCAGAAAG
M60927_Gt1      .....
M60929_Gt1      .....
N_26_BAL        .....
N_106_Plz       .....
N_03_Co         .....
N_19_korn       .....
N_17_bio        .....
N_22_korn       .....C.....
N_11_bio        .....
N_07_Korn       -----
N_60_Co         .....A...
N_08_idr        .....
N_58_Co         .....
N_08_Plz        .....
N_05_Korn       .....
N_42_Co         .....
N_13_bio        .....
N_09_Plz2       .....
N_01_Bio        .....
N_28_idr        .....
N_16_Plz2       .....
N_17_Plz2       .....
N_02_Korn       .....
N_29_idr        .....
N_16_plz        .....
N_06_Plz2       .....
N_39_Co         .....
M60931_Gt2      .....
AD169_Gt2       .....
N_01_Plz2       .....
N_19_Plz2       .....
N_15_Plz2       .....
N_12_Plz2       .....
N_02_Plz2       .....
N_09_BAL        .....
N_06_Korn       .....
N_12_bio        .....
N_18_bio        .....C...
N_116_Plz       .....
N_121_Plz       .....
N_76_Co         .....
N_64_Co         .....A...
N_18_Plz2       .....
M85228_Gt3      ..T.....G.....C..G.
AC146907_Gt3    ..T.....G.....C..G.
N_07_Plz2       .....G.....C..G.
N_05_Plz2       ..T.....G.....C..G.
N_24_Bio        ..T.....G.....C..G.
N_125_Plz       ..T.....G.....C..G.
N_93_Co         ..T.....G.....G.
M60926_Gt4      ..T..A.A.....
N_21_BOS        ..T..AA.A.....
N_10_Plz2       ..T..A.A.....
N_14_bio        ..T..A.A.....
N_20_bio        ..T..A.A.....
N_122_Plz       ..T..A.A.....
AF043721_Gt5    .....A..G.....C....

```

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI



Sayı : 83045809/604.01/ 02 - 266886
Konu:

İstanbul .../.../...

03 Aralık 2014

Dekan' Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

Egit: 19.11.2014 tarih, 76624604/164 sayılı yazınızla:

Bölümünüze bağlı Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Kenan MİDİLLİ'nin danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi Nergiz İMAMOVA'nın yürütücülüğünde "Farklı Hastalık Gruplarında CMV Genotiplerinin Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgil yazınız ve ekleri 02 Aralık 2014 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim

Prof. Dr. Özgür KASABOĞUR
Klinik Araştırmalar Etik
Kurulu Başkanı

Eki:
1 dosya