

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN
HASTALARDA LATENT VİRAL ENFEKSİYON
SIKLIĞININ BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ
DR. RAVZA ÖZBEY

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. IŞIL FİDAN

ANKARA
OCAK 2024

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN
HASTALARDA LATENT VİRAL ENFEKSİYON
SIKLIĞININ BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ
DR. RAVZA ÖZBEY

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. IŞIL FİDAN

ANKARA
OCAK 2024

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR.....	v
KISALTMALAR	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hematopoietik Kök Hücre Nakli (HKHN).....	4
2.2. Kök Hücre ve Kaynakları	5
2.1.1. Kemik iliği.....	5
2.1.2. Periferik kan	5
2.1.3. Kord kanı.....	6
2.3. HKHN Tipleri	6
2.3.1. Otolog kök hücre nakli	6
2.3.2. Allojenik kök hücre nakli	7
2.4. HKHN Hazırlık Rejimleri	7
2.5. HKHN Endikasyonları.....	8
2.6. Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Komplikasyonlar	10
2.7. Hematopoietik Kök Hücre Naklinde Latent Viral Enfeksiyonlar ve Tanısı.....	14
2.7.1. HKHN yapılan hastalardaki latent viral enfeksiyonlar	14
2.7.2. Latent viral enfeksiyon tanısı	15
2.8. HERPES VİRÜSLER	18

2.8.1. Herpes simpleks virüs (HSV)	19
2.8.1.1. Genel özellikleri	19
2.8.1.2. Epidemiyoloji ve Patogenez	20
2.8.1.3. Klinik önemi	22
2.8.1.4. Laboratuvar tanısı.....	23
2.8.1.5. Tedavi.....	25
2.8.2. HHV-3 (VZV).....	26
2.8.3. HHV-4 (EBV)	27
2.8.3.1. Genel özellikleri	27
2.8.3.2. Epidemiyoloji ve Patogenez	31
2.8.3.3. Klinik önemi	32
2.8.3.4. Laboratuvar tanısı.....	33
2.8.3.5. Tedavi.....	35
2.8.4. HHV-5 (CMV).....	35
2.8.4.1. Genel özellikleri	35
2.8.4.2. Epidemiyoloji ve Patogenez	38
2.8.4.3. Klinik önemi	40
2.8.4.4. Laboratuvar tanısı.....	41
2.8.4.5. Tedavi ve korunma.....	44
2.9. POLYOMA VİRÜSLER	45
2.9.1. BK VİRÜS (BKV).....	45
2.9.1.1. Genel özellikleri	45
2.9.1.2. Epidemiyoloji ve Patogenez	47
2.9.1.3. Klinik önemi	48
2.9.1.4. Laboratuvar tanısı.....	49

2.9.1.5. Tedavi ve korunma	51
2.9.2. JC VİRÜS (JCV)	51
2.9.2.1. Genel özellikleri	51
2.9.2.2. Epidemiyoloji ve Patogenez	52
2.9.2.3. Klinik önemi	53
2.9.2.4. Laboratuvar tanısı	53
2.9.2.5. Tedavi ve korunma	54
3. GEREÇ VE YÖNTEM	55
3.1. Örneklerin Toplanması	55
3.2. Kullanılan Test Kiti, Malzeme ve Cihaz	55
3.3. Örneklerden Nükleik Asit İzolasyonu	56
3.4. Amplifikasyon ve Görüntüleme	59
3.5. Sonuçların Görüntülenmesi ve Değerlendirilmesi	64
3.6. Hastane Bilgi Sisteminden Veri Analizi	66
3.7. İstatiksel Analiz	66
4. BULGULAR	68
4.1. Çalışma Grubu	68
4.1.1. Kök hücre nakli yapılan hastalara ait tanımlayıcı özellikler	68
4.1.2. Hasta grubuna uygulanan kök hücre nakline ait özellikler	73
4.2. Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Nakil Sonrası Gelişen Enfeksiyonlar	74
4.2.1. Hastalarda nakil sonrası görülen latent viral enfeksiyonlar	74
4.2.2. Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği görülen hastalarda bakteri ve mantar enfeksiyonu görülme sıklığı	78
4.2.3. Kök hücre nakli yapılan hastalarda görülen latent viral enfeksiyon etkenlerinin nakil sonrası pozitifleşme zamanı	80

4.3. Allojenik Kök Hücre Nakli ve Otolog Kök Hücre Nakli Yapılan Hastaların Karşılaştırmalı Özellikleri (AHKHN, OHKHN)	81
4.3.1. AHKHN ve OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken pozitif ve negatifliği ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması	81
4.3.1.1. AHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif ve negatifliği ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması	82
4.3.1.2. OHKHN yapılan hastalarda CMV pozitiflik ve negatifliği ile tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması	84
4.3.2. AHKHN ve OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken sayısı ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması	85
4.3.2.1. AHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken sayısı ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması	85
4.3.2.2. OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken sayısı ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması	88
5. TARTIŞMA.....	91
6. SONUÇLAR.....	112
7. KAYNAKLAR.....	114
8. ÖZET.....	132
9. SUMMARY	134
10. ÖZGEÇMİŞ	Error! Bookmark not defined.

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve birikimi ile her zaman önümde yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Işıl FİDAN'a, akademik bilgi ve birikimleriyle mesleki gelişimime büyük katkı sağlayan çok değerli hocam Prof. Dr. Gülendam BOZDAYI'ya, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Kayhan ÇAĞLAR'a, asistanları olduğum için her zaman kendimi şanslı hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Meltem Yalınay, Prof. Dr. Ayşe Kalkancı ve Prof. Dr. Funda Doğruman Al'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Asistanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Kenan YÜCE, Selin YİĞİT ve teknisyen arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi iletiyorum. Huzurlu, saygılı, sevecen ve destekleyici bir çalışma ortamı kurduğumuz tüm asistan arkadaşlarıma da uzmanlık eğitimimde ve tez çalışmalarımda olan yardım ve katkılarından dolayı çok teşekkür ediyorum.

Beni büyütüp yetiştiren, desteklerini her zaman hissettiğim ve bugünlere gelmemde en çok katkısı olan kıymetli anneciğim Ayşe Emanet, babacığım Adem Emanet, biricik kardeşlerim Yasir, Beyzagül ve Halil Emanet'e en içten sevgilerimi ve sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Son olarak bana olan desteğinden dolayı sevgili eşim Bilgehan Özbey'e teşekkürlerimi sunuyorum.

KISALTMALAR

AHKHN	Allojenik kök hücre nakli
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ALL	Akut lenfositik lösemi
AML	Akut myeloid lösemi
BKV	BK virüs
BOS	Beyin Omirik Sıvısı
BRLF1	BamHI R fragment leftward open reading frame 1
BT	Bilgisayarlı tomografi
BZLF1	BamHI Z fragment leftward open reading frame 1
CIMBTR	Uluslararası Kan ve İlik Nakli Araştırma Merkezi
CMV	Sitomegalovirüs
DFA	Direkt Florasan Antikor
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EA	Erken Antijen
EBMT	Avrupa Kan ve Kemik İliği Nakil Birliği
EBNA	Epstein-Barr Virüs Nükleer Antijenleri
EBV	Epstein-Barr Virüs
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EM	Enfeksiyöz Mononükleoz
GVHH	Graft Versus Host Hastalığı
HHV-3	İnsan Herpesvirüs tip-3
HHV-4	İnsan Herpesvirüs tip-4
HHV-5	İnsan Herpesvirüs tip-5
HIV	İnsan İmmüyetmezlik Virüsü
HKH	Hematopoietik kök hücre
HKHN	Hematopoietik kök hücre nakli

HL	Hodgkin lenfoma
HLA	İnsan lökosit antijenleri
HSV-1	Herpes simpleks virüs-1
HSV-2	Herpes simpleks virüs-2
IEA	En Erken Antijen
IFA	İmmün Floresan Antikor
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses
JCV	JC virüs
KHN	Kök hücre nakli
KLL	Kronik lenfositik lösemi
KML	Kronik myeloid lösemi
LMP	Latent Membran Proteinleri
MDS	Myelodisplastik sendrom
MHC	Major Histocompatibility Complex
MM	Multiple myelom
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NHL	Non-Hodgkin lenfoma
OHKHN	Otolog kök hücre nakli
ORF	Open Reading Frame
PMF	Primer miyelofibroz
PML	Progresif Multifokal Lökoensefalopati
PTLH	Posttransplant Lenfoproliferatif Hastalık
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIA	Radioimmuno Assay
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
VCA	Viral Kapsid Antijen
VZV	Varisella zoster virüs

ZEBRA Z Epstein-Barr virüs replication activator

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. HKHN'den sonra gelişebilecek komplikasyonlar	10
Tablo 2. Latent viral etkenlerde PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllük oranları	18
Tablo 3. EBV enfeksiyonlarının serolojik profilleri	34
Tablo 4. EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) İçeriği	57
Tablo 5. QIASymphony DSP Virüs/ Patojen midi kit (Qiagen, Almanya) İçeriği	57
Tablo 6. Artus CMV QS-RGQ MDx Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği	59
Tablo 7. Artus HSV-1/2 RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği	60
Tablo 8. Artus® EBV Virüs RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği	61
Tablo 9. Artus® BK Virüs RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği	61
Tablo 10. RealStar® JCV PZR Kit 1.0 (Altona, Almanya) İçeriği	62
Tablo 11. CMV, EBV, HSV-1/2 ve BK virüs PZR Protokolü	63
Tablo 12. JC virüs PZR protokolü	63
Tablo 13. Sonuçların yorumlanmasında kullanılan kanallar ve dalga boyları	64
Tablo 14. Hastaların bazı sosyodemografik özellikleri ve tıbbi özgeçmişi	72
Tablo 15. Hastaların altta yatan hematolojik hastalık tanısına göre dağılımı	72
Tablo 16. Çalışmaya dahil edilen hastalara uygulanan kök hücre nakiline ait nakil türleri, donörün tipi, HLA uyumu, uygulanan hazırlık rejimine ilişkin özellikler	74

Tablo 17. Kök hücre nakli sonrası gelişen latent viral enfeksiyon etkenlerinin nakil türlerine göre pozitiflik durumu	77
Tablo 18. Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği olan hastalarda bakteri ve mantar üreme durumu	79
Tablo 19. İLatent viral enfeksiyon etkenlerine göre pozitifleşme zamanları	81
Tablo 20. AHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif/ negatiflik durumu ile hasta özelliklerinin karşılaştırılması	83
Tablo 21. OHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif/ negatiflik durumu ile hasta özelliklerinin karşılaştırılması	85
Tablo 22. AHKHN yapılan hastaların latent viral enfeksiyon etken sayıları ile sosyodemografik ve hastalığa ait özelliklerinin karşılaştırılması	88
Tablo 23. OHKHN yapılan hastaların latent viral enfeksiyon etken sayıları ile sosyodemografik ve hastalığa ait özelliklerinin karşılaştırılması	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Allojenik kök hücre nakli ilişkili enfeksiyon çizelgesi	13
Şekil 2. Otolog kök hücre nakli ilişkili enfeksiyon çizelgesi	13
Şekil 3. Polimeraz zincir reaksiyon aşamaları	17
Şekil 4. Herpes virüslerin sınıflandırılması	19
Şekil 5. HSV genom yapısı	20
Şekil 6. a. Epitel hücre enfeksiyonu ve virüsün retrograd taşınımı b. Virüsün anterograd taşınımı.....	22
Şekil 7. EBV genom yapısı ve latent genler	29
Şekil 8. EBV enfeksiyonu reaktivasyonu	31
Şekil 9. CMV'nin morfolojik yapısı	36
Şekil 10. CMV DNA genomunun organizasyonu ve genom izomerleri	37
Şekil 11. CMV enfeksiyonunun fazları.....	38
Şekil 12. BKV genomu	47
Şekil 13. BK virüsün vücutta yayılım mekanizması	48
Şekil 14. Decoy hücrelerinin mikroskopik görünümü a. Papanicolau boyalı preparat x400 büyütme b. Faz-kontrast mikroskobu ile x400 büyütme	50
Şekil 15. JCV genom yapısı	52
Şekil 16. Pozitif ve negatif kontrol eğrileri.....	65
Şekil 17. Kantitasyon standartları ve pozitif hasta sonucu eğrisi	65
Şekil 18. Araştırmaya dahil edilen hastaların cinsiyete göre dağılımı.....	68

Şekil 19. Araştırmaya dahil edilen hastaların yaşa göre dağılımı	69
Şekil 20. Araştırmaya dahil edilen hastaların kan gruplarına göre dağılımı (%) ..	69
Şekil 21. Araştırmaya dahil edilen hastaların komorbidite durumuna göre dağılımı.....	70
Şekil 22. Araştırmaya dahil edilen hastaların almış oldukları tanıya göre dağılımı.....	71
Şekil 23. Kök hücre nakli sonrası gelişen latent viral enfeksiyon etkenlerinin pozitiflik durumları.....	75
Şekil 24. Nakil türlerine göre latent virüs enfeksiyon etkenlerinin oranları.....	77
Şekil 25. Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği olan hastalarda klinik örneklere göre üreyen bakteri türü.....	79

1. GİRİŞ

Hematopoietik kök hücre nakli (HKHN), birçok malign ve benign hastalıklarda uygulanan; periferik kan, kemik iliği veya kordon kanından hematopoietik kök hücrelerin (HKH) toplanması ve uygun hazırlık rejimi sonrasında alıcılara infüzyonunu içeren prosedürler için kullanılan genel bir terimdir. HKHN, hastanın kendisinden otolog hematopoietik kök hücre nakli (OHKHN) veya sağlıklı vericiden allojenik hematopoietik kök hücre nakli (AHKHN) şeklinde uygulanabilir. Allojenik HKHN birçok hematolojik malignite ve hastalık için tek küratif seçenek olmasının yanında önemli riskleri de beraberinde getirmektedir.

HKHN sonrası alıcılar, immünsüpresyona bağlı olarak çeşitli enfeksiyonlar için artmış risk altındadır (1). HKHN 'den sonra gelişen viral enfeksiyonlar en önemli mortalite ve morbidite nedenleri arasında yer almaktadır. HKHN hastalarını etkileyen en önemli viral etkenler; Herpes simpleks virüs-1 (HSV-1), Herpes simpleks virüs-2 (HSV-2), Epstein-Barr virüs (EBV), Sitomegalovirüs (CMV), BK virüs, JC virüstür (2). İnsan herpes virüs enfeksiyonları en sık görülen latent viral enfeksiyon etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır.

HSV enfeksiyonları tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. HSV-1 ve HSV-2, genellikle çocukluk döneminde karşılaşılan, yaşam boyu latent enfeksiyon yapabilen herpes simpleks virüslerdir. HSV enfeksiyonlarının çeşitli klinik tabloları tanımlanmıştır. Çoğunlukla asemptomatik olan bu enfeksiyonlar, HKHN yapılan hastalarda ciddi klinik durumlar ortaya çıkarabilmektedir.

EBV, genellikle çocukluk çağında karşılaşılan, yaşam boyu latent enfeksiyon yapabilen, diğer adıyla Human Herpes Virüs-4 olarak adlandırılan bir virüstür (3). Ciddi AHKHN komplikasyonlarından biri olan ve transplantasyon sonrası görülen lenfoproliferatif bozukluk (PTLH) gibi bir dizi klinik sendrom ve durum, EBV pozitifliği ile ilişkilendirilmektedir (4). EBV enfeksiyonunun tanı, takip ve prognozu bu hastalar için oldukça önemlidir.

Human herpes virüs-5 ya da daha sık kullanılan adıyla CMV, allojenik HKHN alıcılarında en yaygın görülen fırsatçı enfeksiyonlardandır (5). Allojenik HKHN alıcılarının %50-70'inde aktif CMV enfeksiyonu görülebilmektedir (6). HKHN sonrası CMV enfeksiyonu hastalarda ciddi morbidite ve mortalite nedenidir (7). CMV enfeksiyonu sıklıkla pnömoni, hepatit, gastroenterit, retinit ve ensefalit gibi klinik tablolara yol açabilmektedir (8). Bu nedenle, HKHN hasta grubunda CMV enfeksiyonlarının prevalansını ve risk faktörlerini araştırmak son derece önemlidir.

Polyomavirüs grubunda yer alan BK virüs (BKV) ve JC virüs (JCV), ilk olarak immünsüprese hastalardan izole edilerek tanımlanmıştır (9). Genellikle çocukluk döneminde BK ve JC virüsler ile enfekte olunmakta ve hafif seyirli hastalığa yol açmaktadırlar. Ancak, immün sistemi baskılanmış konakçıda BK ve JC virüs enfeksiyonları ciddi klinik tablolar oluşturmaktadır. BK virüs daha çok hemorajik sistit ve nefropati gibi tablolara ilişkilidir. Ayrıca, pnömoni, retinit, karaciğer hastalığı ve meningoensefalit tablosu da oluşturabilmektedir. JC virüs, progresif multifokal lökoensefalopati tablosuyla ilişkilendirilmiştir (10). BK virüsüne bağlı olarak gelişen hemorajik sistit (BKV-HC), AHKHN hastalarının

%8-27'sinde ciddi hematüri (derece 3 veya 4) ile birlikte önemli morbiditeye yol açmakta ve uzun süreli hastanede kalış sürelerine neden olabilmektedir (11). HKHN yapılan hastalarda BK virüs ve JC virüs replikasyonunun erken tespiti klinik seyir açısından oldukça önemlidir.

HKHN yapılan hasta gruplarında enfeksiyonların hızlı ve doğru tanısı yapılan transplantasyonun başarısını, hastanın yaşam süresini ciddi oranda arttırmaktadır. Son yıllarda hızlı, özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-Time PCR) gibi moleküler tekniklerin kullanımı özellikle HKHN gibi yüksek risk grubu olan hastalarda morbidite ve mortalitenin azaltılmasını sağlamıştır. Real-Time PCR yöntemi ile ayrıca kantitatif viral yük tayini, riskli hasta gruplarında prognozu ve uygulanacak tedavi seçenekleri konusunda da yol gösterici olmaktadır.

Çalışmamızda HSV-1/2, EBV, CMV, BK ve JC virüs gibi latent viral etkenlerin hematopoietik kök hücre nakli yapılan hastalarda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile varlığının araştırılması ve bu sayede HKHN sonrası bu latent enfeksiyonların sıklığının tespit edilmesi ve nakil tipine göre risk faktörleri ile karşılaştırmalarının yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hematopoietik Kök Hücre Nakli (HKHN)

Kök hücre nakli (KHN), kemik iliği ve/veya immün sistemi doğuştan veya tümör, kemoterapi ve radyoterapi gibi nedenlerle hasar görmüş kişilerde, hematopoietik sistemin yeniden yapılanmasını sağlamak amacıyla pluripotent kök hücrelerin (CD34 + hücreler) vericiden alıcıya nakledilmesidir (12, 13).

İlk kemik iliği nakli George Pathé tarafından 1959 yılında Yugoslavya’da gerçekleşen bir nükleer reaktör kazasından sonra 5 fizikçiyi kemik iliği aplazisinden kurtarmak amacıyla yapılmıştır (14). İlerleyen yıllarda insan lökosit antijenlerinin (HLA) tanımlanması, kemik iliğinde çoğalma ve farklılaşma kapasitesi yüksek pluripotent kök hücrelerin keşfi ve bu hücrelerin kemik iliğinden elde edilerek in vitro ortamda çoğalma ve farklılaşmalarının sağlanması ile birlikte elde edilen bilgiler ışığında HKHN konusunda önemli gelişmeler elde edilmiştir. Dünya genelinde yıllık ortalama 55.000-60.000 hastaya HKHN yapılmaktadır (13).

Normal hematopoez sağlayacak kök hücrelerin vericiden alıcıya nakli anlamına gelen HKHN, kök hücrenin elde edildiği donör ile alıcı ilişkisine, HLA uyumuna ya da kök hücrelerin anatomik kaynağına göre farklı şekillerde tanımlanmaktadır (12).

2.2. Kök Hücre ve Kaynakları

2.1.1. Kemik iliği

HKHN’de ilk olarak kullanılmış olan kök hücre kaynağı kemik iliğidir (15). Hematopoietik kök hücreler (HKH) ameliyathane koşullarında, genel veya spinal anestezi altında özel aspirasyon iğneleri ile posterior iliak kemikten aspirasyon yapılarak toplanmaktadır. Vericiden alınması önerilen kemik iliği miktarı 20 ml/kg (verici ağırlığı) olarak sınırlandırılmıştır. Genellikle 15-20 ml/kg (alıcı ağırlığı) örnek alınması hedeflenir. Elde edilmesi gerekli çekirdekli hücre sayısı alıcı ağırlığına göre 2×10^8 /kg olarak belirlenmiştir (16).

2.1.2. Periferik kan

Sağlıklı kişilerde periferik kanda dolaşan HKH sayısı nakil için yetersizdir ve HKH’lerin kemik iliğinden periferik kana geçişini sağlamak gerekmektedir. Hematopoietik büyüme faktörleri ve/veya kemoterapilerin kullanılması ile periferik kanda dolaşan kök hücre sayısı yaklaşık 100 kat arttırılır (15). Genel anestezi gerektirmemesi, engrafman süresinin kemik iliği kaynaklı nakillere göre daha kısa olması önemli avantajlarından (17, 18). Bununla birlikte kemik iliği nakline göre daha yüksek oranda kronik Graft Versus Host Hastalığı (GVHH) geliştiğini bildiren yayınlar olması nedeniyle, özellikle çocuklarda ve erken evre hastalığı olanlarda kullanımı sınırlanmaktadır (17-19).

2.1.3. Kord kanı

Yenidoğan bebeklerin umbilikal kord kanında HKH'lerin varlığının belirlenmesi sonrasında, umbilikal kord kanı ilk kez 1988 yılında tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır (20). HKH'ler doğumla birlikte umbilikal kord veya plasentadan klempleme sonrası elde edilmekte ve dondurularak uzun yıllar saklanabilmektedir. Yapılan çalışmalar ile umbilikal kord kanında erişkin periferik kanından 10 kat daha fazla farklı tipte HKH olduğu gösterilmiştir (21).

2.3. HKHN Tipleri

2.3.1. Otolog kök hücre nakli

Otolog kök hücre nakli, hematopoietik kök hücre kaynağı olarak hastanın kendi kök hücrelerinin kullanıldığı nakil tipidir. Bu işlemde, hastanın kök hücreleri mobilize edilir, toplanır, işlenir, saklanır ve yüksek doz kemoterapi sonrası hastaya reinfüze edilir. Kaynak hastanın kendisi olduğundan, graft rejeksiyon veya graft versus host hastalığı (GVHH) riski yoktur. Toplanan kök hücrelerin içinde tümör hücreleri yer alabileceğinden relaps riski mevcuttur. Otolog HKHN, multiple myelom ve lenfoma gibi hematolojik malignitelerin yanı sıra nöroblastom, over kanseri, germ hücreli tümörler gibi solid organ malignitelerinde ve otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (1).

2.3.2. Allojenik kök hücre nakli

Allojenik kök hücre nakli; sağlıklı vericiden alınan HKH'lerin hastaya verilmesi ve böylece hastada verici hematopoietik sisteminin yapılandırılması işlemidir. Steril şartlar altında kök hücre toplanması yapıldıktan sonra toplanan ürünün hastaya damar yoluyla infüzyon şeklinde verilmesiyle nakil işlemi gerçekleştirilir (16). Allojenik nakil donörleri, insan lökosit antijenlerinin (HLA) uyumuna göre 10/10 uyumlu ya da 9/10 uyumlu bir aile üyesi (genellikle kardeş), akraba dışı 10/10 uyumlu ya da 9/10 uyumlu bir gönüllü verici veya haploidentik (2 veya daha fazla HLA Ag uyumsuzluğu bulunan ve en az 5/10 Ag uyumu sağlayan) tercihen 1.derece akraba verici olabilmektedir (22).

2.4. HKHN Hazırlık Rejimleri

Otolog kök hücre nakli, hastanın normal kabul edilen hematopoietik kök hücrelerinin altta yatan hastalığı yok etmek amaçlı kullanılan yüksek doz kemoterapilere bağlı olarak ortadan kaldırılması sonrası immün sistemin kendini tekrar toparlayabilmesi için hastaya geri verilmesi esasına dayanmaktadır (12). Söz konusu kök hücreler hastanın kendisine ait olması sebebiyle AHKHN gibi bir greft reddi ya da GVHH riski yoktur (12). Amaç altta yatan hastalığı ortadan kaldırmak olduğu için uygulanacak hazırlık rejimi bu doğrultuda seçilmektedir.

Allojenik kök hücre naklinin temel prensiplerinden birisi malign ya da fonksiyonu bozulmuş hücrelerden oluşan normal olmayan hematopoietik kök hücrelerin eradike edilerek yerine normal hematopoietik kök hücrelerin yerleştirilmesidir (13). Bu değişiminin sağlanabilmesi için öncelikli olarak hastanın

nakledilen kök hücreleri kabul etmesi yani alıcı hücrelerinin reddinin engellenmesi ve eş zamanlı olarak altta yatan primer hastalığın eradikasyonu gerekmektedir (12, 13). Bu hedefe yüksek doz kemoterapi ve bazı durumlarda beraberinde uygulanan tüm vücut ışınlama (myeloablatif rejim) ile ulaşılabilir (13). Altta yatan hastalık ciddi kombine immün yetmezlik, aplastik anemi gibi malign olmayan hastalık olduğu durumlarda ise daha düşük doz kemoterapiler (non-myeloablatif rejimi) de kullanılabilir. İleri yaş, daha önce uygulanan tedaviler, eşlik eden komorbidite gibi çeşitli nedenlerle myeloablatif hazırlık rejimlerinin uygulanmadığı hastalarda non-myeloablatif hazırlık rejimleri uygulanabilir (12).

Amaç altta yatan hastalığı ortadan kaldırmak olduğu için uygulanacak hazırlık rejimi bu doğrultuda seçilmektedir. Hematopoietik kök hücre nakli için pek çok hazırlık rejimi geliştirilmekle beraber, bu rejimlerin birçoğu yüksek antitümör aktivesine sahip kemo/radyo terapötiklerden oluşmaktadır (12). En sık kullanılan ajanlar: busulfan, siklofosfamid, melphalan, thiotepa, karmustin, etoposid, fludarabin, sitozin arabinozid, antitimosit globulindir (12).

2.5. HKHN Endikasyonları

Hematopoietik kök hücre nakli endikasyonları erişkin ve çocukluk yaş grubunda bir miktar farklılık göstermekle beraber malign ve malign olmayan hastalıklar olmak üzere iki ana başlık altında toplanabilir.

Aplastik anemi, hemoglobinopatiler, ciddi kombine immün yetmezlik sendromu, Wiskott-Aldrich sendromu, Chediak-Higashi sendromu HKHN'nin

uygulandığı malign olmayan hastalıkların başında gelmektedir (12). Çocukluk yaş grubunda hereditör kemik iliği yetmezlik sendromları ile yenidoğanın metabolik hastalıkları HKHN'nin uygulandığı diğer malign olmayan hastalıklardır (22). Erişkin yaş grubunda ise romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, progresif sistemik skleroz, multiple skleroz, idiyopatik trombositopenik purpura, vaskülitler, Crohn hastalığı gibi konvansiyonel tedavilerin başarısız olduğu otoimmün hastalıklar da HKHN'nin yapıldığı diğer malign olmayan hastalıklar arasında yer almaktadır (22).

Akut myeloid lösemi (AML), akut lenfositik lösemi (ALL), kronik myeloid lösemi (KML), kronik lenfositik lösemi (KLL), myelodisplastik sendrom (MDS), primer miyelofibroz (PMF), multiple myelom (MM), hodgkin lenfoma (HL), non-hodgkin lenfoma (NHL) ve solid organ tümörleri ise HKHN'nin uygulandığı malign hastalıkların başında gelmektedir (22).

AHKHN sıklıkla akut lösemiler için yapılırken, OHKHN ise en sık MM tedavisinde uygulanmaktadır (13, 23). Akut lösemilerde hastanın HKHN öncesi hastalık durumuna bağlı olarak kür oranları değişmekle beraber, yüksek riskli hastalarda kemoterapiye kıyasla belirgin bir üstünlük sağlanmaktadır (12). Yüksek doz kemoterapi sonrası OHKHN uygulanmasının MM'da artmış tam yanıt ve sağkalım avantajı sağlandığının gösterilmesi, özellikle genç hasta grubunda OHKHN'nin MM için standart tedavi yöntemi olarak kabul edilmesini sağlamıştır (24).

2.6. Hematopoietik Kök Hücre Nakli Sonrası Komplikasyonlar

Hematopoietik kök hücre nakli yapılmış olan hastalar, nakil sonrası altta yatan primer hastalık, hasta yaşı, nakil tipi, uygulanan hazırlık rejimi, daha önceden aldığı tedaviler, GVHH gelişimini önlemek için kullanılan profilaksi tedavileri ile ilişkili olarak bir çok komplikasyon ile karşı karşıya kalmaktadır (25). Özellikle allojenik HKHN'den sonra gelişebilecek sık görülen komplikasyonlar ve bu komplikasyonların geliştiği süre tablo 1'de gösterilmiştir (26, 27).

Tablo 1. HKHN'den sonra gelişebilecek komplikasyonlar (26, 27)

Komplikasyon		Geliştiği süre
İlaçlara bağlı toksisite	Mukozit	İlk 1 ay
	Hemorajik sistit	İlaça bağlı ilk 1 ay Viral nedenlerle daha geç dönemde
	Venooklüzif hastalık	İlk 45 gün
	İdiyopatik pnömoni	15 gün-2 ay
Graft Versus Host Hastalığı	Akut	İlk 100 gün
	Kronik	Nakli izleyen 100. günden sonra
Enfeksiyonlar	Bakteri	Gram pozitif ve negatif enfeksiyonlar (90.güne kadar) Kapsüllü bakteri enfeksiyonları (90.günden sonra)
	Mantar	Candida (İlk 45 gün) Aspergillus (1-6 ay arası)
	Virüs	HSV (ilk 1 ay) CMV (1-4 ay) Adenovirüs (1-4 ay) Varisella Zoster Virüs (3-12 ay)

Akut dönemdeki komplikasyonlar; gastrointestinal kanama, Trombotik mikroanjiyopati, oral mukozit, ishal, akut GVHH ve enfeksiyonlardır .

Geç dönemdeki komplikasyonlar; kronik GVHH, enfeksiyonlar, infertilite, hipotiroidi, büyüme gelişme bozuklukları (ve diğer endokrin sorunlar), katarakt, avasküler nekroz ve sekonder malignitelerdir (28).

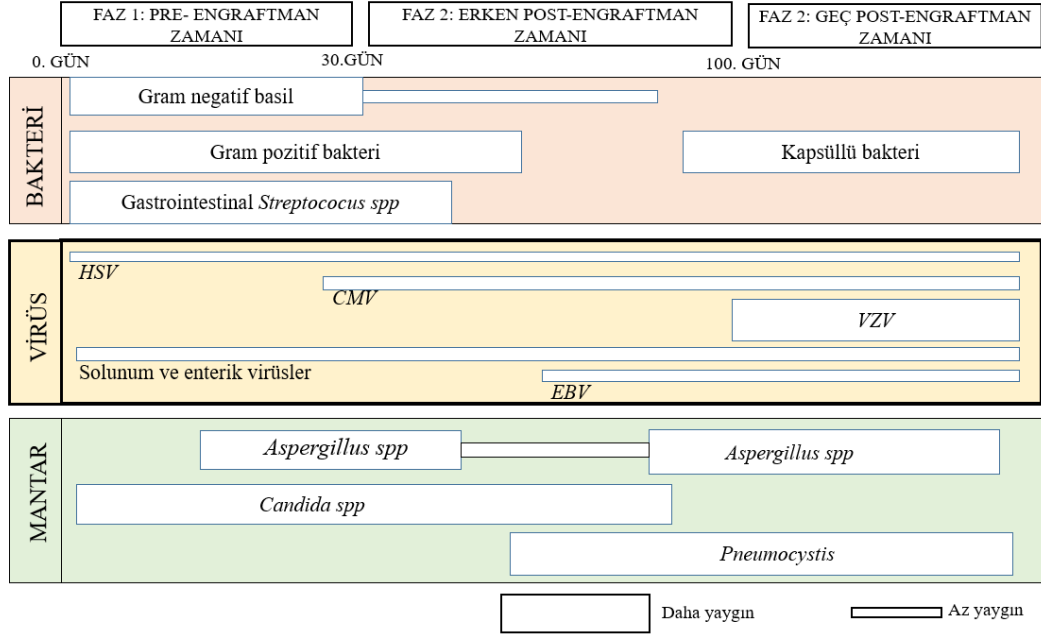
Hematopoietik kök hücre nakli sonrası immün sistemin yeniden yapılanması esnasında hastalarda; bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyon sıklığında artış gözlenmektedir. Periferik kan sayımı genellikle hazırlık rejiminin uygulanmasından sonraki birkaç gün ile bir hafta içerisinde en düşük seviyelere ulaşır ve 16-22. günler arasında, nakledilen kök hücrelerden farklılaşan kan hücrelerinin kemik iliğinden çevre kana çıkması nedeni ile yükselmeye başlar. ‘Engraftman’ olarak tanımlanan bu süreç; kök hücre kaynağına, nakil sonrası kullanılan büyüme faktörüne ve GVHH için uygulanan profilaksi tedavisine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (13). Nakil sonrası takip; engraftman öncesi (0-30 gün), erken post-engraftman (30-100 gün) ve geç post-engraftman (100 gün sonrası) olmak üzere üç fazdan oluşmaktadır.

Engraftman öncesi fazında; nakil tipinden bağımsız olarak hastalarda derin nötropeni nedeniyle bakteriyel, HSV’ye bağlı viral ve kandidaya bağlı mantar enfeksiyonları gelişebilir. Bu dönemde nötropeninin uzaması halinde *Aspergillus* mantar türlerine ait enfeksiyonlar da görülebilmektedir (22). Nakil hazırlık rejim türü, nötropeni süresi, immünsüpresif tedaviler, santral katater varlığı, nakil hastalarında bakteriyel enfeksiyon açısından risk faktörleridir. Kataterle ilişkili *Staphylococcus epidermis* ve gram negatif bakteriler en sık görülen bakterilerdir. Entübe ve uzamış nötropenisi olan hastalarda ise *Acinetobacter spp* ve *Stenotrophomonas spp* enfeksiyonları açısından dikkatli olunması gerekmektedir (29).

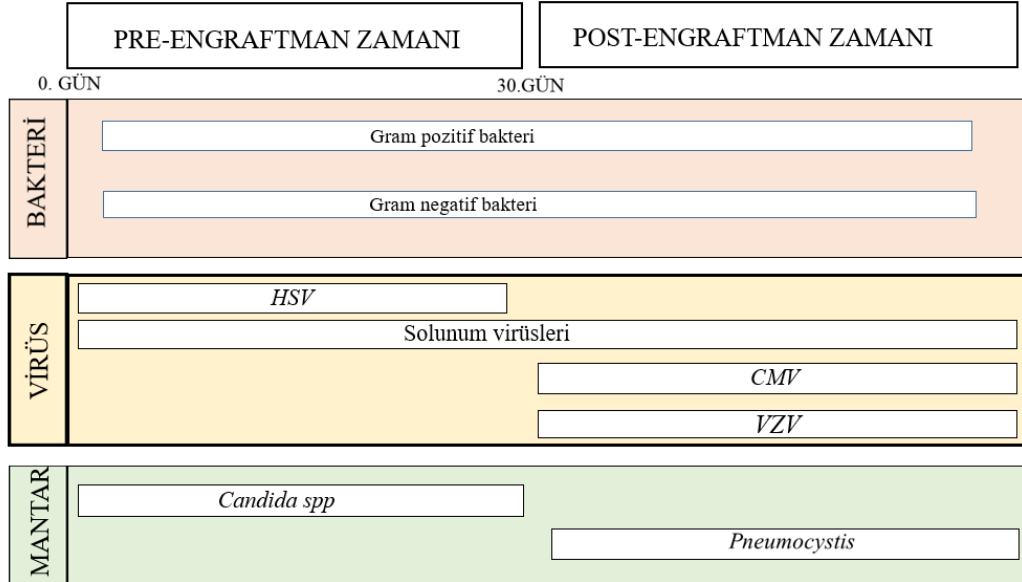
Hücrel immün sistemdeki işlev bozukluğunun belirgin olduğu erken post-engraftman fazında ise; CMV, varicella zoster virüsü (VZV) gibi etkenlere bağlı

latent enfeksiyonların reaktivasyonu ya da *Pneumocystis jiroveci*, *Aspergillus* türlerine bağlı spesifik enfeksiyonlar gelişebilmektedir (23). CMV enfeksiyonunun kötü prognoz ile ilişkisinin gösterilmesi ile birlikte riski azaltmak için profilaktik ve pre-emptif tedaviler gündeme gelmiştir. Profilaktik intravenöz gansiklovir kullanımının CMV enfeksiyon insidansını azaltmakla beraber sağkalım üzerine etkisinin olmaması ve immün yeniden yapılanmadaki olumsuz etkilerine sekonder geç dönem CMV enfeksiyon gelişimine sebep olması nedeniyle pre-emptif tedavi stratejisi ön plana geçmiştir. Nakil sonrası ilk 100 günlük süreçte periferik kanda haftalık CMV düzeyi takip edilerek CMV enfeksiyonunun erken tespiti ve tedavisi önerilen bir yaklaşımdır (30).

Geç post-transplantasyon fazında ise; immünglobulin eksikliğine bağlı olarak hastalarda *Haemophilus influenza*, *Streptococcus pneumonia* gibi kapsüllü bakterilere bağlı enfeksiyonlar, endemik bölgelerde tüberküloza bağlı pnömoni görülebilmektedir. Allojenik kök hücre nakli hastalarında kronik GVHH varlığında ve buna yönelik immünsüpresif tedavi alanlarda risk daha da artmaktadır (22). Allojenik kök hücre nakli yapılan hastalarda görülen enfeksiyonların dönemsel dağılımı şekil 1’de, otolog kök hücre nakli yapılan hastalarda görülen enfeksiyonların dönemsel dağılımı şekil 2’de gösterilmiştir (31).



Şekil 1. Allojenik kök hücre nakli ilişkili enfeksiyon çizelgesi (31)



Şekil 2. Otolog kök hücre nakli ilişkili enfeksiyon çizelgesi (31)

2.7. Hematopietik Kök Hücre Naklinde Latent Viral Enfeksiyonlar ve Tanısı

2.7.1. HKHN yapılan hastalardaki latent viral enfeksiyonlar

Latent viral enfeksiyon; virüsün hücre içinde saklanarak immün sistemden gizlendiği ömür boyu süren enfeksiyon aşamasıdır ve zaman zaman reaktif olabilmektedir. İmmünitede bozulma, kimyasal değişiklikler, stres, ultraviyole ve ilaçlar başlıca reaktivasyon nedenlerini oluşturmaktadır. HKHN sonrası latent viral enfeksiyonlar, yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkili önemli komplikasyonlardır (32). Viral enfeksiyonların kalıcı olarak temizlenmesi, esas olarak spesifik ve etkili bir T hücre yanıtına bağlıdır. HKHN hastaları, myeloablatif tedaviden dolayı birkaç hafta pansitopenik kalmalarının yanısıra radyoterapi, kemoterapi, graft rejeksiyonunu engellemek ile GVHH profilaksisi için kullanılan immünsüpresif tedavinin aylarca sürmesi nedeniyle uzun süre immünsüprese kalabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı otolog ve allojenik kök hücre nakli yapılan hastalar enfeksiyon yönünden yüksek risk taşımaktadır. Nakil sonrası en sık görülen viral patojenler herpes virüsler ve polyoma virüslerdir (32).

HKHN hastalarında en sık görülen latent viral enfeksiyonlar herpes virüs ve polyoma virüsler aracılığıyla oluşmaktadır. Bu grup virüsler arasında; HSV-1, HSV-2, CMV, EBV, BK virüs ve JC virüs yer almaktadır (32).

Latent virüs, immün sistemi baskılanmış konakta reaktif olmakta ve viral genom miktarının artışı ile kendini göstermektedir. Hızlı ve hassas tanı yöntemlerinin geliştirilmesi, virüsleri erken bir aşamada tespit etme fırsatı sağlamaktadır. Günümüzde kullanılan tanı yöntemlerinin çoğu, nükleik asitlerin

moleküler yöntemlerle tespit edilmesi esasına dayanmaktadır. Son yıllarda özellikle immün sistemi baskılanmış olgularda görülen latent virüsler ile ilişkili patolojilerin saptanmasında kantitatif gerçek zamanlı-PZR yaygın olarak kullanılmaktadır (33). Virüs kültürü, histopatolojik yöntemler ve serolojik yöntemler de dahil olmak üzere geleneksel tanı yöntemleri, spesifik klinik uygulamalar için hala kullanılmaktadır ancak klinik ortamda özellikle immünsüprese hastalarda virüs tespitinin doğru ve hızlı olarak yapılabilmesine olanak sağlaması açısından moleküler yöntemler çok önemli bir yere sahiptir. Latent virüs reaktivasyonunda uygun örnekte viral nükleik asidinin PZR ile saptanması hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (34).

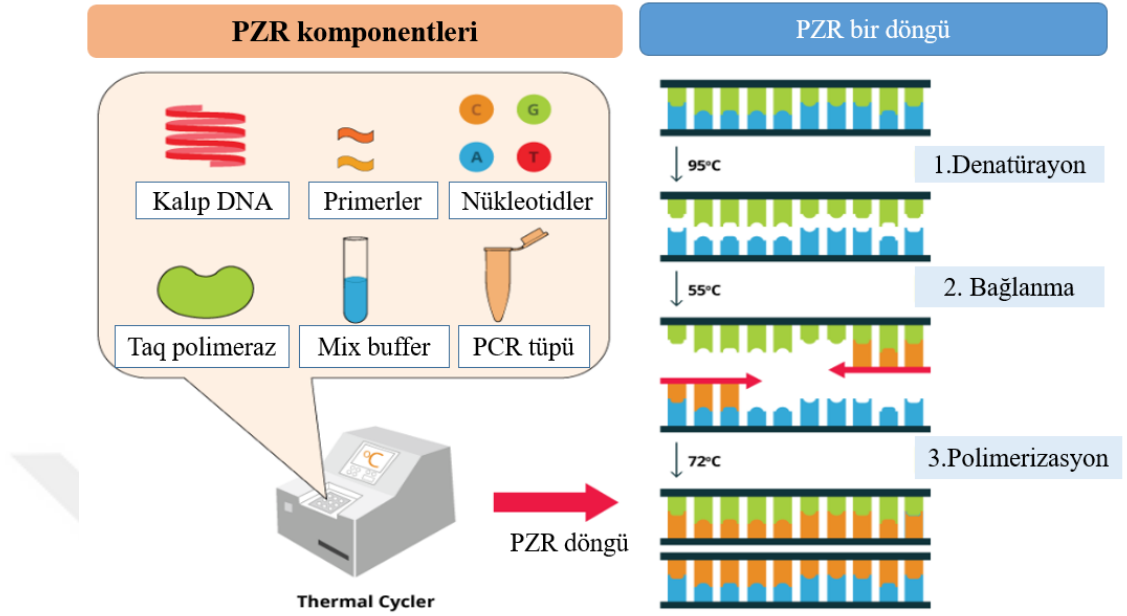
2.7.2. Latent viral enfeksiyon tanısı

PZR, Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) aranması amacıyla ilk kez 1985 yılında Kary Mullis tarafından keşfedilmiş, yüksek ölçüde duyarlı ve özgül bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Bu tekniği keşfeden bilim adamı, tanı ve araştırma olanaklarında evrime yol açan bu başarısından ötürü Nobel ödülünü almaya hak kazanmıştır (35). PZR, hızlı sonuç vermesi, konvansiyonel yöntemlerle saptanması zor mikroorganizmaları saptayabilmesi ve yüksek duyarlılığı nedeniyle mikrobiyoloji alanında önemli bir tanısal yöntem haline gelmiştir. Rutin mikrobiyolojik tanıda PZR yönteminin kullanım amacı, hastalardan alınan örnekler içinde hastalık etkeni mikroorganizmanın nükleik asitlerinin varlığının saptanmasıdır.

PZR, bir DNA zincirinin bilinen iki parçası arasında bulunan özel bir DNA bölümünün enzimatik olarak in vitro çoğaltıldığı bir tekniktir. Başlangıçta belirli

bir genin sadece küçük bir parçası elde edilebilirken, günümüzde PZR kullanılarak birkaç saat içinde tek bir gen kopyasından milyonlarca kopya çoğaltılabilmektedir. PZR ile DNA'nın çoğaltılabilmesi için reaksiyon karışımında; çoğaltılmak istenilen kalıp DNA, bu DNA'da çoğaltılması planlanan bölgenin iki ucundaki DNA dizisini özgül olarak tanıyıp bağlanacak olan oligonükleotid DNA primerleri, primerlere bağlanıp bunlara 3' ucundan nükleotidleri ekleyerek sentez yapacak olan ısıya dayanıklı termostabil DNA polimeraz, sentezde kullanılacak deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP'ler: dATP, dCTP, dGTP, dTTP), polimerazın çalışması için gerekli tampon görevi yapacak maddeler, tuzlar ve enzimin çalışması için önemli bir kofaktör olan Mg^{++} iyonlarının bulunması gerekir (36).

PZR; denatürasyon, bağlanma ve polimerizasyon olmak üzere 3 aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama olan denatürasyon, çift sarmal DNA'nın yüksek sıcaklık altında ($93-96^{\circ}C$) çözülerek tek zincir haline gelmesidir. İkinci aşama olan bağlanma; sıcaklığın düşürülmesi ile primerlerin çoğalması sağlanarak, kendilerine özgül dizileri tanımaları ve hidrojen bağlarını oluşturmalarıdır. Primerlerin özgül olarak bağlanması için kullanılan sıcaklık genellikle $50^{\circ}C$ ile $70^{\circ}C$ arasında değişmektedir. Üçüncü aşama olan polimerizasyonda; DNA polimerazın çalıştığı optimum sıcaklık olan $72^{\circ}C$ 'de, primerlere nükleotid eklenmesi ile DNA zincirinin uzaması gerçekleşmektedir. Bu 3 aşama PZR metodunda bir döngüyü oluşturur (37) (Şekil 3).



Şekil 3. Polimeraz zincir reaksiyon aşamaları (37)

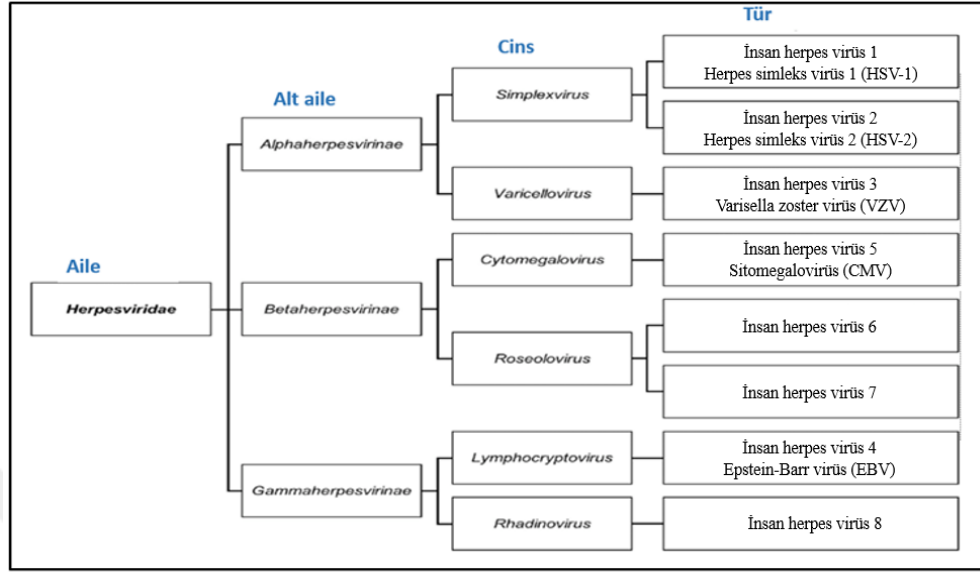
PZR tekniğinin bulunmasından günümüze kadar pek çok yeni metot geliştirilmiştir. Gerçek zamanlı-PZR; son yıllarda enfeksiyon hastalıklarında patojenlerin belirlenmesinde klinik laboratuvarlarda tercih edilen ve rutin olarak uygulanan bir yöntem haline gelmiştir (38). Gerçek zamanlı-PZR'da DNA amplifikasyonu, artan floresan ölçümleri ile ilişkilendirip kantitatif sonuçlar elde edilebilmektedir. Gerçek zamanlı-PZR'nin avantajları; konvansiyonel PZR'a göre uygulama kolaylığı, kısa sürede sonuç alınması, kantitasyon sonuçlarının güvenilirliği ve kontaminasyon olasılığının düşük olmasıdır (39). HKHN yapılan hastalarda görülen latent viral enfeksiyon etkenlerinin, tanısında kullanılan PZR yönteminin özgüllük ve duyarlılık oranları tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Latent viral etkenlerde PZR yönteminin duyarlılık ve özgüllük oranları (40-43)

Patojen	Duyarlılık	Özgüllük	Örnek
HSV-1/2	% 98	% 94-100	BOS
EBV	% 94	% 97	Kan
CMV	% 93	% 96	Kan
BK Virüs	% 100	% 94	İdrar
JC Virüs	% 72-92	% 92-100	BOS

2.8. HERPES VİRÜSLER

Herpesviridae ailesi; *Alfaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* ve *Gammaherpesvirinae* olmak üzere üç alt aileye ayrılır. *Herpesviridae* ailesinin tüm üyeleri latent enfeksiyon oluşturabilmektedir. Virüsün latent kaldığı hücrelerde birtakım değişiklikler oluşabilmektedir. Alfa-herpes virüslerin çoğu nöronlarda, beta-herpes virüsler nöronal olmayan hücrelerde ve gama-herpes virüsler B ve T lenfositlerinde latent kalabilmektedir (44). Herpes virüslerin sınıflandırması şekil 4’te gösterilmiştir (45).



Şekil 4. Herpes virüslerin sınıflandırılması (45)

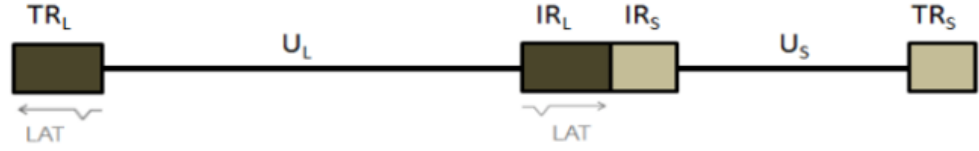
2.8.1. Herpes simpleks virüs (HSV)

2.8.1.1. Genel özellikleri

İnsanlarda görülen HSV enfeksiyonları ilk olarak antik Yunanistan'da belgelenmiştir. Yunan bilim adamları tarafından, yayılma özelliği gösteren lezyonları tanımlamak için sürünmek anlamına gelen "herpes" kelimesi kullanılmıştır (46). 'International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)' tarafından İnsan herpes simpleks virüsü olarak tanımlanan HSV; *Herpesviridae* ailesinin *Alphaherpesvirinae* alt ailesinde sınıflandırılır.

Herpes virüsler çift iplikli lineer DNA genomuna sahip, tegument ile kaplanmış ikozahedral kapsid simetrisi, zarflı virüslerdir. Viral genomu ikozahedral simetride 152 kapsomerden oluşan 100-110 nm çapında bir kapsid çevrelerken

toplam virüs çapı 120-200 nm civarındadır (47). Şekil 5'te HSV genom yapısı gösterilmiştir (48).



TRL/IRL: Terminal/ Ters çevrilmiş uzun bölge

TRS/IRS: Terminal/ Ters çevrilmiş kısa bölge

UL: Uzun eşsiz bölge **US:** Kısa eşsiz bölge

LAT: Latentlikle ilişkili transkript

Şekil 5. HSV genom yapısı (48)

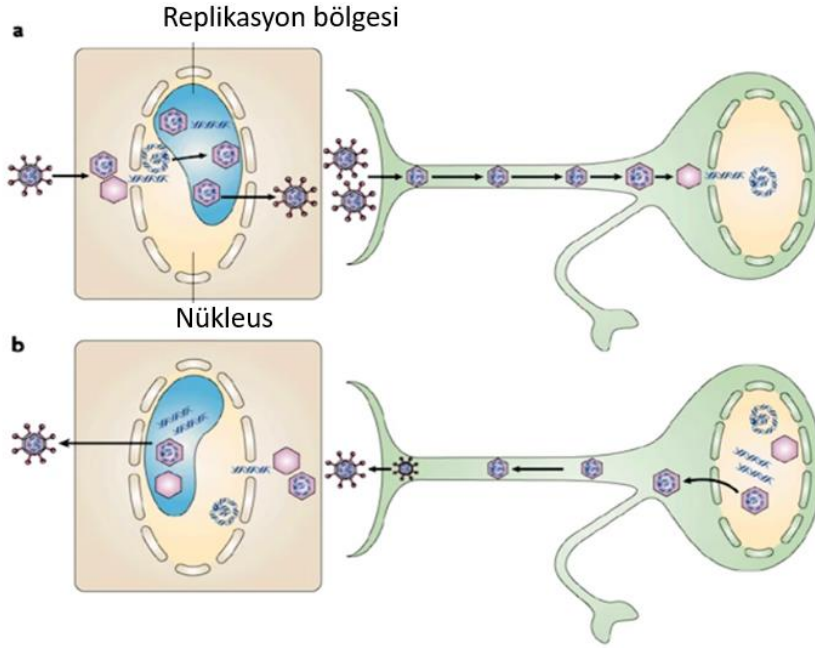
Nükleokapsidin dışında yer alan ve konak hücre nükleus membranından kazanılmış olan lipid zarf üzerinde poliaminlar, lipidler ve glikoproteinler yer almaktadır. Önemli viral antijenlerden olan glikoproteinler; gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, gM, gN ve gP olarak tanımlanan 12 adet ünitelerden oluşur (49). Virüsün zarfı ile konak hücre membranının füzyonu ve penetrasyonu, virüs tarafından indüklenen hücrelerin füzyonu ve bağışık yanıttan kaçış gibi durumlar glikoproteinlerin önemli fonksiyonlarıdır (50).

2.8.1.2. Epidemiyoloji ve Patogenez

HSV'nin tek doğal konağı insandır. Bütün dünyada HSV enfeksiyonları hem gelişmiş hem de gelişmemiş toplumlarda yaygın olarak görülmektedir. Hastalığın kaynağı özellikle semptomatik herpetik lezyonu olan kişiler veya tükürüklerinde virüs taşıyan asemptomatik (% 1-5) insanlardır. Dünya genelinde nüfusun %65-90'ının HSV-1 ve HSV-2 ile enfekte olduğunu gösteren veriler

bulunmaktadır (51). Hem HSV-1 hem de HSV-2'nin bulaşması yakın temas yoluyla gerçekleşir ve bu durum ömür boyu sürececek bir enfeksiyon ile sonuçlanmaktadır. HSV-1 enfeksiyonları %90 oral lezyonlar şeklinde görülmekle birlikte, genital enfeksiyonlar da oluşturabilmektedir. HSV-2 enfeksiyonları %90 genital lezyonlar şeklinde görülmekle birlikte, oral enfeksiyonlar da oluşturabilmektedir (52) .

HSV, enfeksiyonun başlangıç bölgesindeki deri ve muköz membranlarda çoğalır. Dermal keratinositler ve diğer epitel bölgeleri deride viral replikasyonun başlıca bölgeleridir (53). Virüs, yüzey glikoproteinleri ve nektin-1 gibi hücrel HSV reseptörleri arasındaki etkileşimler yoluyla epitel hücrelerine bağlanır ve ardından nükleokapsit ve tegument proteinleri sitoplazma içine serbest bırakılır (54). Viral DNA çekirdeğe girer, kapalı sirküler bir DNA haline gelir ve çekirdekte epizom olarak kalır. Viral DNA, insan DNA'sına entegre olmaz. Viral nükleokapsit, aksondan yukarı retrograd aksonal transportla taşınmaktadır. HSV duyusal ganglion hücrelerinde latent hale gelir. Genellikle HSV-1, trigeminal ganglionlarda, HSV-2 lumbar ve sakral ganglionda latent hale gelmektedir (55). Virüs latentlik durumunda çeşitli indükleyiciler ile reaktif hale geçebilir ve nörondan anterograd aksonal transport ile deri bölgesine geçip, çoğalarak lezyonlara yol açmaktadır. Şekil 6'da virüsün aksonal taşınımı gösterilmiştir (56). Bağışıklığı baskılanmış bireyler, artan reaktivasyon sıklığı riski altındadır. Çünkü HSV enfeksiyonunun, kontrol altına alınması için sağlam hücrel bağışık yanıt gereklidir. Bununla birlikte, güçlü bir konak hücrel ve humoral yanıt olsa da, HSV çeşitli immün kaçış mekanizmaları aracılığıyla immün yanıt aracılı eradikasyonu engelleyebilir (57).



Şekil 6. a. Epitel hücre enfeksiyonu ve virüsün retrograd taşınımı b. Virüsün anterograd taşınımı (57)

2.8.1.3. Klinik önemi

HSV-1 ve 2'ye bağlı enfeksiyonlar, birincil (primer) ve tekrarlayan (rekürren) tipte olabilmektedir. Primer HSV enfeksiyonları virüsle ilk kez karşılaşan (seronegatif) kişilerde görülmektedir. Virüs, hastalığın geçirilmesinin ardından duyu gangliyonlarında latent hale gelmektedir. Primer herpetik enfeksiyonlarını; orofarangeal hastalık, keratokonjonktivit, ensefalit, genital herpes, neonatal herpes ve aseptik menenjit tabloları oluşturmaktadır (58).

HSV-1 en çok çocuklarda gingivostomatit olarak görülür ve ateş, huzursuzluk ve ağızda veziküler lezyonlarla karakterizedir. Orolabial herpes ise rekürren formda, hafif, çoğu kez dudak veya burunda deri-mukoza kavşağına yerleşmiş vezikül gruplarıyla karakterizedir. HSV-2 ise semptomatik olarak en çok

genital herpes olarak karşımıza çıkmaktadır. HSV enfeksiyonunun klinik belirtileri, dahil olan anatomik bölgeye ve klinik epizodun primer enfeksiyondan mı yoksa reaktivasyondan mı kaynaklandığına bağlıdır. Enfeksiyon ömür boyu sürerken, immün kompetan konakçıda nadiren ölümcüldür. Primer HSV enfeksiyonu olan birçok hasta asemptomatiktir. HSV antikörleri olan hastaların sadece %20 ila %25'inin klinik bir oral-labial veya genital enfeksiyon öyküsü olduğu gösterilmiştir (59).

HSV enfeksiyonu çoğunlukla HKHN'den sonraki ilk 4 hafta içinde ortaya çıkmaktadır. Yüksek seroprevelans nedeniyle HKHN sonrası HSV enfeksiyonu daha çok latent virüsün reaktivasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Otolog veya allojenik HKHN yapılan hastaların yaklaşık %12 ila %16'sında asemptomatik HSV bulaşması gerçekleşir ve bu hastaların %79'unda mukozit geliştiği görülmektedir. HKHN uygulanan hastalarda HSV enfeksiyonu insidansı asiklovir profilaksisinin kullanılmaya başlanmasıyla %80'den %30'a düşmüştür (60).

2.8.1.4. Laboratuvar tanısı

İmmün yetmezliği olan ve asemptomatik enfeksiyon bulunan konaklar dışında HSV enfeksiyonlarının lezyonları tipiktir ve tanı klinik olarak konulabilmektedir. Ama her zaman klinik tanı yeterli olmayabilir. HSV enfeksiyonu tanısında hücre kültürü, histolojik inceleme, serolojik yöntemler, HSV spesifik enzimlerin tespiti ve viral DNA'nın moleküler yöntemlerle tespiti kullanılmaktadır. Tanı için lezyon kazıntısı, veziküler sıvı, boğaz sürüntüsü, doku, beyin omirilik sıvısı (BOS), konjonktiva ve serum örnekleri kullanılmaktadır.

HSV'nin tanısında boyalı preparat veya antikor işaretli floresan boyama, elektron mikroskobu, örnek üzerinde direk uygulanabilen yöntemlerdir. Lezyondan alınan örnek ile Tzanck yayması yapıp wright, giemsa ve papanicolaou gibi boyalarla boyanıp, mikroskopik inceleme yapılır. Mikroskopik inceleme de çok çekirdekli dev hücreler veya intranükleer inklüzyonların görülmesi VZV veya HSV lehine bir bulgudur. Bu yöntem kolay ve hızlıdır ancak duyarlılığı düşüktür. Ayrıca VZV ve HSV'nin ayrımını yapamamaktadır. Direkt floresan antikor (DFA) yöntemi özellikle enfeksiyonun başlangıcında %90 duyarlılığa sahiptir (61). HSV enfeksiyonunun tanısında en duyarlı ve özgül metot virüsün izolasyonudur. Lezyonlardan alınan kazıntı örnekleri viral transport besiyerine konularak laboratuvara ulaştırılarak uygun hücre kültürüne ekilir. Hücre kültüründe HSV'nin sitopatik etkisi; sitoplazmik granülasyon, çok çekirdekli dev hücre ve sinsitya oluşumu şeklinde gözlenir. Bu görüntü karakteristiktir. Pozitif hücre kültürlerinin çoğunda sitopatik etki ilk gün ortaya çıkmaktadır. Sinsitya oluşumu ise HSV-2'de daha çok gözlemlenmektedir. Hücre kültüründe viral antijenlerin tespiti için immünohistokimyasal ve DFA testi yapılarak virüsün tiplendirilmesi yapılır. DFA testinde monoklonal antikorlarla hücre kültüründeki viral antijenler işaretlenerek mikroskopta floresan inceleme yapılır. DFA'nın avantajları; duyarlı, hızlı, ucuz ve spesifik olmasıdır. HSV'ye karşı vücutta oluşan antikorların tespitinde enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), nötralizasyon, hemagglütinasyon, indirekt immünofloresan, kompleman birleşmesi ve radioimmuno assay (RIA) gibi serolojik teknikler kullanılmaktadır. Serolojik yöntemlerden en sık ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Geçmiş yıllarda HSV-1 ve 2'ye karşı oluşan ortak antikorlar tespit

edilirken, artık tip düzeyinde antikorlar tespit edilebilmektedir (62) . HSV IgG avidite testleri, primer enfeksiyonla reaktivasyon ayrımını yapmaya olanak sağlamaktadır. Primer enfeksiyondan sonra oluşan antikorlar düşük aviditeli iken birkaç ay içerisinde avidite artmaktadır. HSV-2 IgG düşük avidite düzeyleri primer enfeksiyonun belirtisidir. Yüksek avidite düzeyleri ise tekrarlayan veya daha önce geçirilmiş enfeksiyona işaretir. HSV'nin merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonlarında, PZR altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. DFA ve kültüre göre duyarlılığı oldukça yüksektir (63). HSV, BOS örneğinde viral kültür ile %5 oranında tespit edilirken, PZR yönteminde az sayıdaki virüs varlığında bile HSV belirlenebilmektedir (64). BOS'dan PZR yöntemiyle HSV-DNA saptanmasının sensitivitesi %98, spesifitesi %94–100 olarak kabul edilmektedir (43). PZR ile sadece virüsün varlığı değil aynı zamanda nörovirülans genlerinin dizisini, HSV'nin antiviral ilaçlara karşı genotipik ve fenotipik direnci arasındaki korelasyonun anlaşılması sağlanmaktadır. Bugün artık BOS örneklerinde yapılan kantitatif PZR analizleri ile MSS'deki enfeksiyonun şiddetini anlamak ve antiviral tedaviyi takip etmek mümkün olmaktadır (65).

2.8.1.5. Tedavi

HSV tedavisinde, standart birinci basamak ilaçlar arasında asiklovir, valasiklovir ve famsiklovir yer almaktadır. Nükleozid analoglarının antiviral etkisi, virüsle enfekte hücre tarafından hücre içine alınmasıyla başlar. HSV-1/2'nin timidin kinaz enzimi, hücre içine alınan nükleozid analoglarını fosforilleyerek DNA polimerazı yarışmalı olarak inhibe eder. Asiklovir, herpes genitalis dahil HSV enfeksiyonları için ilk tercih terapötik ajandır. Herpes genitalis de dahil olmak üzere

deri ve mukoza membranlarının enfeksiyonları, bağışıklığı yeterli kişilerde oral yoldan tedavi edilir. Şiddetli HSV enfeksiyonları özellikle immün yetmezliği olan hastalarda, intravenöz asiklovir ile tedavi edilmelidir. Primer enfeksiyonun ilaçla tedavisi latent duruma geçişi önlememektedir fakat uzun süreli kullanımı nüksleri baskılayabilmektedir (66).

2.8.2. HHV-3 (VZV)

İnsan Herpes virüs 3 (HHV-3) olarak tanımlanan Varisella zoster virüs (VZV); *Herpesviridae* ailesinin bir üyesidir. VZV; *Herpesvirales* takımında, *Herpesviridae* ailesinin, *Alfaherpesvirinae* alt ailesinde sınıflandırılır (67). VZV, 125.000 bp uzunluğunda lineer çift sarmallı genoma sahip bir DNA virüsüdür ve 68 adet açık okuma bölgesi (ORF- open reading frame) içerir.

VZV, yalnızca insanları enfekte eder. T lenfositleri, epitel hücreleri ve ganglionları hedef alır. Varicella ve zoster, VZV enfeksiyonunun farklı klinik formlarıdır. Varicella, VZV ile oluşan primer enfeksiyondur. En sık çocuklarda görülür ve oldukça bulaşıcıdır. Sıklıkla gövde, baş ve yüzde görülen kaşıntılı veziküler döküntüler ile karakterizedir. Halsizlik, ateş ve yorgunluk hastalığa eşlik eder ve hastalık genellikle bir hafta sürer. Komplikasyonlar arasında derinin bakteriyel süperenfeksiyonu, ensefalit ve pnömoni bulunur. Primer enfeksiyondan sonra duyu nöronlarını enfekte eden VZV, retrograd aksonal transport ile latent hale geldiği dorsal kök ganglion hücrelerine taşınır. Zoster, dorsal kök ganglionlarındaki latent VZV'nin reaktivasyonuna bağlı ortaya çıkan sekonder bir enfeksiyondur. Genellikle erişkinlerde veya immün sistemi baskılanmış hastalarda ortaya çıkar.

Zoster, dorsal kök veya kraniyal sinir duyu gangliyonlarının inflamasyonunun eşlik ettiği ağrılı veziküler lezyonlar şeklinde belirli bir dermatomdaki döküntülerle karakterizedir (68, 69).

Su çiçeği ve zoster tanısı çoğunlukla klinik olarak konulmasına rağmen laboratuvar testleri mevcuttur. Cilt lezyonu örneklerinde viral DNA saptamak için PZR testleri ve DFA testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Hem varisella hem de zoster'e karşı antiviral ilaçlar ve aşılar mevcuttur. İmmünkompetan çocuklarda antiviral tedavi gerekli değildir, ancak döküntü başlangıcından sonraki 24 saat içinde oral asiklovir başlanması semptomların şiddetini azaltır. Varisella veya zona bulunan immünsüprese hastaların asiklovirle tedavi edilmeleri gerekmektedir (68).

2.8.3. HHV-4 (EBV)

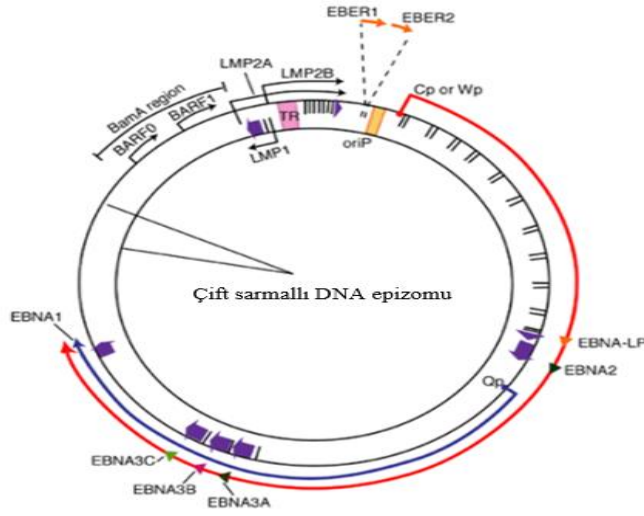
2.8.3.1. Genel özellikleri

Anthony Epstein ile arkadaşları Yvonne Barr ve Bert Achong'nın 1964'lerin sonlarında Burkitt lenfomalı hastaların lenfoma hücre kültürlerinde herpesvirüs partiküllerini elektron mikroskobu ile göstermelerinden sonra bu çalışma Lancet'te yayınlanmış ve etkene Epstein-Barr virüs (EBV) ismi verilmiştir (70). EBV, *Herpesviridae* ailesinin *Gammaherpesvirinae* alt ailesinde bulunan *Lenfokriptovirüs* cinsindendir. EBV, Human herpes virüs tip-4 (HHV-4) olarak da isimlendirilmektedir (71).

EBV, çift iplikçikli DNA içeren büyük, zarflı bir virüstür. Pek çok DNA virüsü gibi EBV'de konak hücre nükleusunda replike olmaktadır. Virüsün

tomurcuklanması nükleus membranında gerçekleşmektedir. Konak hücre içinde intranükleer inklüzyon cisimcikleri (Cowdry-A) oluştururlar. Bilinen tek konağı ve rezervuarı insandır. Viral DNA, 172 kb büyüklüğünde ve 162 kapsomer içeren ikozahedral simetri gösteren kapsid ile çevrilidir. Bu kapsid, glikoprotein içeren bir zarf ile çevrenmiştir (72).

Konak özgüllüğü çok sınırlı olan EBV, in vitro olarak insan ve bazı primatların B lenfosit ile nazofarenks epitel hücrelerinde üretilmektedir. Hücre kültürlerinde sitopatik etki oluşturmaz. EBV genomu taşıyan enfekte hücreler devamlı bölünme özelliği kazanmaktadırlar. Böyle hücelere ‘transforme’ veya ‘immortal’ hücre adı verilir. EBV genomunun tümü ve pek çok RNA ürünü tanımlanmıştır. Genom bölgeleri, genomun BamHI-restriksiyon endonükleaz haritasındaki pozisyonuna bağlı olarak belirlenmiş ve BamHI parçalarının boyutuna göre isimlendirilmiştir; BamA en uzun genom bölgesi olup, küçük parçalar küçük harflerle gösterilmiştir. Genom yaklaşık 100 tane ORF içerir (73). EBV iki tekrarlayan terminal bölge arasında, bir seri birbirine benzemeyen sekansların internal tekrarlarla ard arda dizildiği bir genoma sahiptir. Çembersel yapılaşma sırasında iki terminal bölge birleşmektedir. Şekil 7’de EBV genom yapısı gösterilmiştir (74).



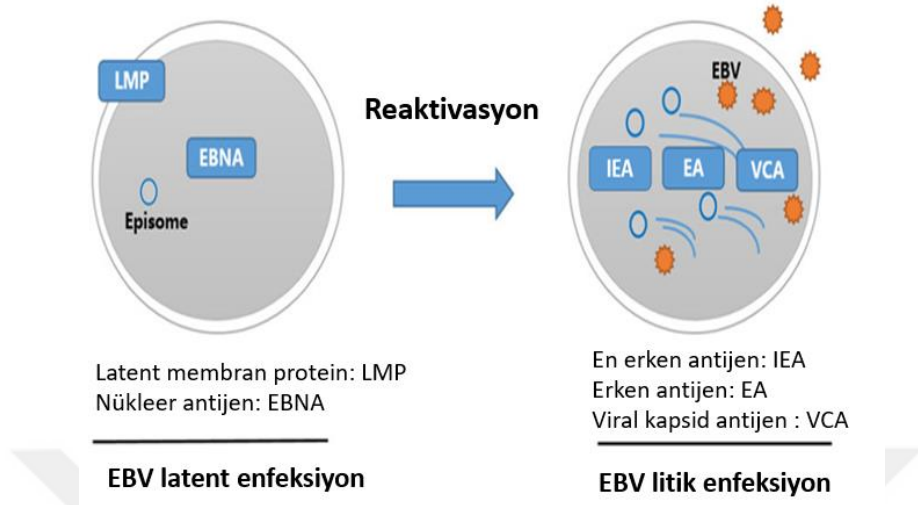
Şekil 7. EBV genom yapısı ve latent genler (74)

EBV'nin EBV-1 ve EBV-2 olarak adlandırılan iki alt tipi bulunmaktadır. Bu iki tipin farklılığının Epstein-Barr virüs nükleer antijenlerini (EBNA) kodlayan latent genlerdeki polimorfizm ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu poliformik noktalar PZR yöntemi ile saptanabilmektedir (75). EBV; B hücreleri ve epitel hücrelerinde litik enfeksiyon, B hücrelerinde latent enfeksiyon ve immortal (ölümsüz) hücrelerin oluşması gibi üç farklı formda etkiye neden olabilmektedir (76).

Enfeksiyon başlangıcında virüs, gp350/220 majör glikoproteini ile B hücre yüzeyinde yer alan C3d kompleman reseptörüne (CR2/CD21) bağlanmaktadır. EBV'nin konakçı hücrenin yüzeyine tutunmasından sonra, diğer üç viral glikoprotein (gp85, gp25 ve gp42) konakçı hücrenin membranı ile birleştiği, özellikle gp42'nin major histo-kompatibilite kompleksi (MHC) sınıf II'ye bağlanabildiği ve EBV'nin MHC sınıf II molekülünü B lenfositlerin enfeksiyonunda bir koreseptör olarak kullandığı belirlenmiştir. EBV ile infekte olan

bir hücrede öncelikle litik enfeksiyon başlar. Bu hücrelerde Z gen bölgesinden kodlanan BamHI Z Epstein-Barr virüs replication activator (ZEBRA) proteini sentezlenir. Bu protein transkripsiyonu aktive eder ve virüsün en erken genlerini aktive ederek litik enfeksiyonu başlatmaktadır. Litik enfeksiyonda; en erken antijen (IEA-immediate early antigen), erken antijen (EA-early antigen), viral kapsid antijen (VCA-viral capsid antigen) ve membran antijen (MA-membrane antigen) başlıca sentezlenen proteinlerdir. Litik döngü; EBV'nin B lenfositlerini enfekte etmesi ile başlayıp viral genomun oluşup hücre dışına çıkması ve bunun sonucunda hücre ölümünün gerçekleşmesi ile sonlanmaktadır (77)

Latent enfekte hücrelerde DNA sirküler yapıdadır. Latent enfeksiyon ve replikasyon arasındaki geçiş, BZLF1 ve BRLF1 olarak adlandırılan iki EBV erken proteini tarafından başlatılır. Latent EBV genomu, altı EBNA proteini ve üç latent membran proteinini (LMP) eksprese etmektedir. B lenfositleri virüs ile enfekte olduktan sonra transforme olurlar ve virüs genomu hücre genomuna entegre olur. B lenfositlerinin bir kısmı litik sıklusa girerken, bir kısmı yaşam boyunca latent olarak kalır. Latent genlerin ekspresyonuna göre 3 tip latentlik tanımlanmaktadır. Birinci tip latentlikte; EBNA-1 eksprese edilir ve Burkitt lenfoma ile ilişkili hastalık olarak bildirilmektedir. İkinci tip latentlikte; EBNA-1, LMP-1, LMP-2A, LMP-2B eksprese edilmektedir. Üçüncü tip latentlikte; ise tüm latent faz proteinlerinin ekspresyonu gerçekleşmektedir. Latent fazda bulunan enfekte bir hücrenin tekrar litik döngüye girmesi reaktivasyon ile sonuçlanmaktadır (70). Şekil 8'de EBV enfeksiyonunun reaktivasyonu gösterilmiştir (78).



Şekil 8. EBV enfeksiyonu reaktivasyonu (78)

2.8.3.2. Epidemiyoloji ve Patogenez

Tüm dünyada çok yaygın görülmekte olan EBV enfeksiyonunun başlıca bulaş yolları; tükürük, tükürükle enfekte yiyecekler, ortak kullanılan kontamine bardak vb. eşyalar, öpüşme gibi yakın kişisel temastır. Kan transfüzyonu, organ ve hematopoietik kök hücre nakli ile de bulaşabilmektedir (79).

Primer enfeksiyon yaşı, virüse maruz kalmaya etki eden sosyodemografik faktörler nedeniyle önemli farklılıklar göstermektedir. Kötü hijyenik ve kalabalık yaşam koşullarına sahip gelişmekte olan birçok ülkede, primer enfeksiyon erken yaşta görülmektedir (79). EBV'nin yakın temas ile bulaşının çok kolay olması, yüksek prevalansının en önemli nedenidir. Erişkin yaşa kadar toplumun yaklaşık %90'ı EBV ile karşılaşmaktadır (80). EBV ile enfekte olmuş kişiler, tamamen asemptomatik olsalar bile, yaşam boyu aralıklı olarak virüsün yayılmasında önemli rol oynarlar (76).

Oral yolla bulaşan EBV, orofaringeal epitel hücrelerinde prodüktif enfeksiyona sebep olmaktadır. EBV, CD21 yüzey reseptörü taşıyan B lenfositleri ve nazofarinks epitel hücrelerini enfekte eder (33). EBV ilk olarak oral epitel hücrelerinde litik lezyon oluşturur. Sonrasında B lenfositleri enfekte etmektedir. Enfekte B lenfositlerde inkübasyon periyodundan sonra, viral replikasyon başlar. B lenfositlerde virüs çoğalarak hücrelerin parçalanmasına neden olur ve açığa çıkan virüsler hücrel ve humoral immüniteyi aktive ederler. EBV enfeksiyonunun kontrol altına alınmasından ve enfekte B lenfositlerde proliferasyonunun önlenmesinden öncelikle hücrel immün yanıt sorumludur (76). Hastalarda immün sistemde bir yetersizlik söz konusu ise EBV, B hücre çoğalmasını uyarmakta ve özellikle transplantasyon hastalarında uygulanan uzun süreli immünsüpresif tedaviye bağlı olarak, Posttransplant Lenfoproliferatif Hastalık (PTLH) tablosu oluşabilmektedir. Bu hastalar immün sistemin yetersizliği nedeniyle EBV ile enfekte olmuş B hücrelerinin çoğalmasını kontrol edememektedir (81).

2.8.3.3. Klinik önemi

Bebek ve çocukların EBV enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik veya nonspesifik semptomlara sahipken, ergenlerin ve yetişkinlerin enfeksiyonları sıklıkla enfeksiyöz mononükleoz (EM) tablosu ile sonuçlanmaktadır (82).

EM hastalarının % 50'den fazlası ateş, lenfadenopati ve farenjit (klasik triad) semptomlarını gösterirken; hastaların % 10'undan fazlasında splenomegali, palatal peteşi ve hepatomegali görülmektedir. Daha az görülen komplikasyonlar arasında hemolitik anemi, trombositopeni, aplastik anemi, miyokardit, hepatit, genital

ülserler, splenik rüptür, ensefalit ve menenjit gibi nörolojik komplikasyonlar yer almaktadır (83).

Primer enfeksiyon sonrasında EBNA antijenleri, latent viral genleri aktive ederek, enfekte B hücrelerinde latent enfeksiyon oluşturmada rol oynamaktadır. Kronik aktif EBV enfeksiyonu, patogenezi tam olarak anlaşılmayan, önemli malignitelere yol açma potansiyeli yüksek olan, EBV replikasyonunun baskılanamamış formudur (84). Organ transplantasyonu sonrası immünsüpresif tedavinin uzun süre uygulanmasına bağlı olarak gelişen immün sistem baskılanmasıyla görülen PTLH, genellikle EBV enfeksiyonu ile bir arada olan ciddi bir komplikasyondur (85).

2.8.3.4. Laboratuvar tanısı

EBV enfeksiyonlarının tanısında BOS, tam kan, serum, plazma, parafinlenmiş doku ve taze dondurulmuş doku gibi klinik örnekler kullanılmaktadır (72). Tanıda; virüs izolasyonu, serolojik testler ve moleküler yöntemler yer almaktadır. Tükürük, perifer kan veya lenfoid dokudan virüs izolasyonu yapılabilmektedir. EBV, enfekte ettiği hücrelerde sitopatik etkiye yol açmamaktadır. Orofaringeal veya genital sekresyonlar, periferik kan veya tümör dokusundan alınan klinik örnekler, özellikle EBV enfeksiyonuna duyarlı olan insan göbek kordonu, lenfosit hücre kültürü ortamına ekilir ve hücre transformasyonunun gözlemlenmesi için 4-6 hafta süre ile inkübe edilir. Hücre kültürü; emek isteyen ve zaman alıcı bir yöntem olması nedeniyle rutinde kullanılmamaktadır (86).

EBV EBNA, EA, VCA antijenlerine karşı antikorların araştırıldığı immün floresan antikor (IFA), ELISA ve immünblot testleri tanı amacıyla kullanılmaktadır. Enfeksiyon sırasında EBV major antijenlerine karşı oluşan antikorların varlığının belirlenmesi özellikle atipik lenfositöz ve heterofil antikorların bulunmadığı, ancak EBV enfeksiyonundan şüphelenilen hastalarda oldukça önem taşımaktadır. EBV serolojisi akut enfeksiyonun; geçirilmiş enfeksiyondan ya da reaktivasyondan ayırımında önem taşımaktadır (87). Tablo 3’te EBV enfeksiyonunun serolojik profilleri verilmiştir (87).

Tablo 3. EBV enfeksiyonlarının serolojik profilleri (87)

Seroloji	EBV Antikor paterni				
	VCA IgG	VCA IgM	EBNA IgG	EBNA IgM	EA IgG
Seronegatif	-	-	-	-	-
Akut enfeksiyon	+/-	+	-	+	+/-
Geçirilmiş enfeksiyon	+	-	+	+	-
Reaktivasyon	+	+/-	+	-	+

Son yıllarda EBV enfeksiyonunun tanısında EBV DNA’nın saptanmasına olanak sağlayan nükleik asit amplifikasyon testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemle EBV DNA’nın kalitatif veya kantitatif olarak değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Klinik örneklerde EBV DNA, PZR gibi amplifikasyona dayalı testler ile saptanabilmekte ve kantitatif olarak değerlendirilip viral yük belirlenebilmektedir. Özellikle son yıllarda bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde EBV’nin neden olduğu hastalıkların belirlenmesinde EBV DNA’nın kantitatif olarak saptanması önem kazanmıştır (88). İmmünsüprese bireylerde serumda EBV

DNA'sının PZR ile saptanmasında sensitivitesi %94 spesifitesi %97 olarak bildirilmiştir (41).

2.8.3.5. Tedavi

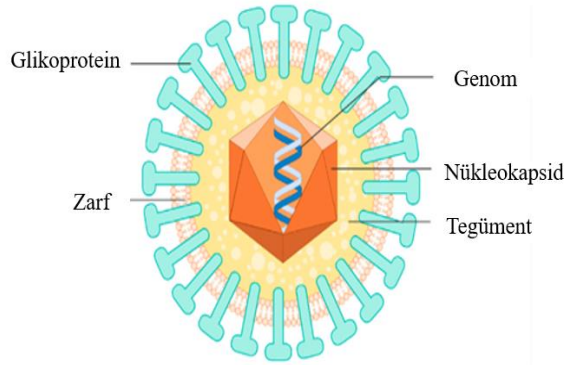
EM'de destek tedavisi uygulanmaktadır. Semptomatik tedavi ile takip yapılmalıdır. Olası komplikasyonlara yönelik önlemler alınmalıdır. İmmünsüprese hastalarda ise immünsüpresif tedavinin azaltılması veya kesilmesi, asiklovir gibi antiviral ajanlar, intravenöz immunglobulin, anti-B monoklonal antikorlar gibi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (76).

2.8.4. HHV-5 (CMV)

2.8.4.1. Genel özellikleri

İnsan Herpes virüs 5 (HHV-5) olarak tanımlanan Sitomegalovirüs (CMV); *Herpesviridae* ailesinin bir üyesidir. CMV; *Herpesvirales* takımında, *Herpesviridae* ailesinin, *Betaherpesvirinae* alt ailesinde sınıflandırılmaktadır. Virüsün adı, virüs tarafından enfekte edilen hücrelerin büyümesinden (cyto: hücre, mega: büyük) kaynaklanmaktadır (89).

CMV, insan herpesvirüs genomlarının en büyüğüne sahiptir. CMV partikülü 120-200 nm çapa sahiptir ve 230 kb lineer çift iplikli DNA genomu içeren bir kor, 162 kapsomer içeren ikozahedral kapsid, amorf tegument ve onları çevreleyen fosfolipid açısından zengin zarf bölümlerinden oluşmaktadır. Şekil 9'da CMV'nin morfolojik yapısı gösterilmiştir (90).

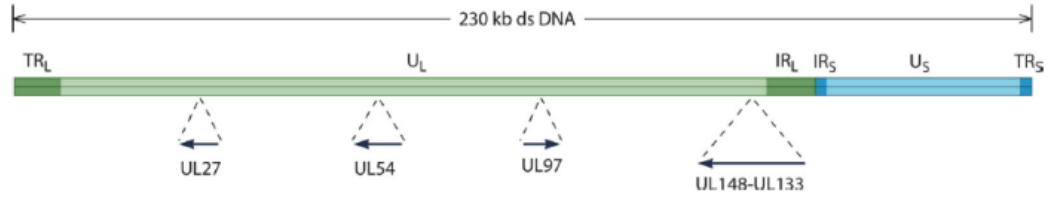


Şekil 9. CMV'nin morfolojik yapısı (90)

Kapsid majör ve minör olmak üzere iki ana yapı proteini içerir. Majör kapsid proteini yapısal olup, minör kapsid proteini DNA ile birleşir. Zarf en az 6 adet glikoprotein içerir. Bu glikoproteinlerden en önemlileri gB (glikoprotein B) ve gH (glikoprotein H)'dir. gB virüsün hücreden hücreye geçişinde ve füzyonda, gH ise virüsün konak hücreye adezyonunda önemlidir. Tegüment kısmında matriks proteinleri yer alır. Matriks proteinlerinin fonksiyonları henüz tam anlaşılamamış olmakla beraber; pp65 protein kinazların yaptığı fosforilasyonun ana hedefidir ve antijenemi testinde saptanan proteindir; 'lower matriks proteini' olarak da bilinir ve sitotoksik T lenfositler için en önemli hedeftir. pp65 proteini, immün sistemi baskılanmış hastalarda CMV viremi sırasında lökositlerde ve endotelial hücrelerde saptanır (91, 92)

CMV genomu, yapısal ve düzenleyici proteinler ile konakçının bağışıklık sistemini modüle eden proteinleri kodlayan, 200'den fazla ORF'den oluşur. 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 yer almaktadır. Ayrıca bu bölgeler UL bölgesinde de

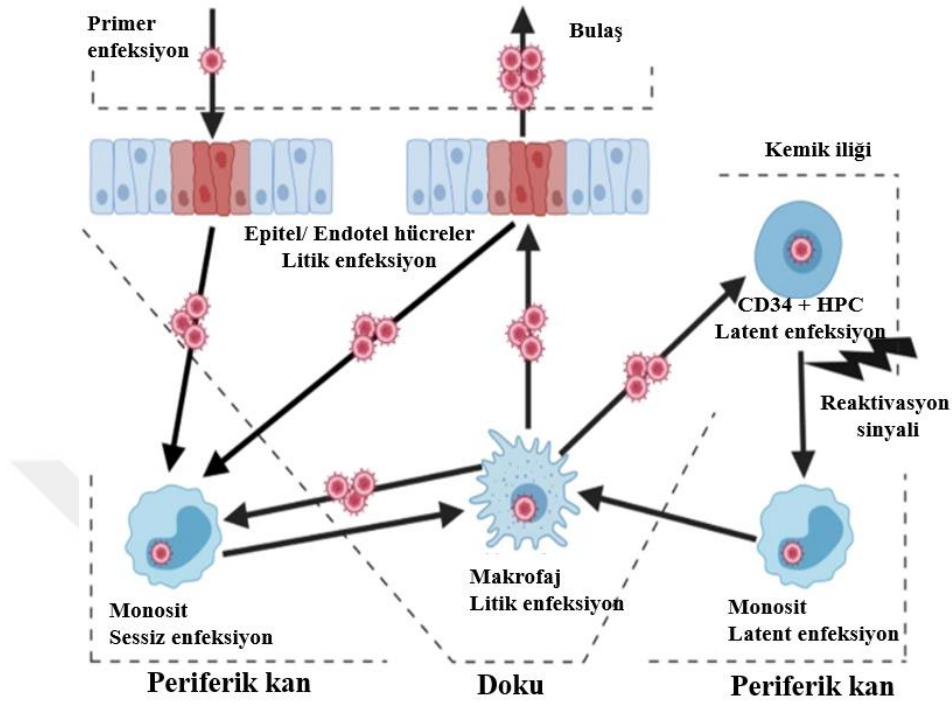
bulunmaktadır ve IRL, TRL olarak adlandırılır. Şekil 10'da CMV genom yapısı gösterilmiştir (93).



Şekil 10. CMV DNA genomunun organizasyonu ve genom izomerleri (93)

CMV replikasyonu, en erken (IE), erken (E) ve geç (L) faz genleri olarak adlandırılan üç gen grubu tarafından kontrol edilir. IE genleri, iki genetik element olan IE-1 ve IE-2'nin ekspresyonunu kontrol eden ana IE promotörünün (MIEP) kontrolü altındadır. IE genleri, E ve L genlerinin ekspresyonunu düzenler. MIEP, çeşitli viral ve konakçı genlerin güçlü bir transaktivatörüdür ve IE genleri ile birlikte viral patogeneizde önemli bir rol oynadığı görülmektedir (94).

CMV, miyeloid seri hücrelerinde, özellikle periferik kan monositlerinde ve CD34+ hematopoietik progenitor hücrelerde latent kalabilmektedir. Primer enfeksiyonun başlangıç aşamalarında; CMV epitel hücrelerini litik olarak enfekte eder ve çoğalır, periferik kan monositlerinin enfeksiyonuna yol açar. Monositlerin enfeksiyonu ve latent enfeksiyonla ilişkili genlerin ekspresyonu ile latent enfeksiyon oluşmaktadır. Enfekte monositler dokulara geçerek makrofajlara farklılaşır viral yayılımı sağlamaktadır. Şekil 11'de CMV enfeksiyonunun fazları gösterilmiştir (95).



Şekil 11. CMV enfeksiyonunun fazları (95)

2.8.4.2. Epidemiyoloji ve Patogenez

CMV, dünya çapında bir dağılıma sahiptir ve mevsimsel ya da epidemik özellik olmadan, her yaştan insanı enfekte edebilmektedir. CMV seroprevalansı yaşla birlikte artar ve oranı %40-100 arasında değişir. Prevelans, toplumların gelişmişlik düzeyleri ile ilişkili olarak farklılık göstermektedir. Avrupa, Avustralya, Kuzey Amerika ülkelerinde seroprevalans düşüktür. Afrika, Güneydoğu Asya, Güney Amerika ve Hindistan'da ise okul öncesi dönemde çocukların %90'dan fazlası seropozitifdir (91, 92).

CMV transplasental, kan, tükürük, idrar, gözyaşı, semen, anne sütü, kan transfüzyonu, solid organ nakilleri, HKHN gibi çok çeşitli yollarla bulaşabilmektedir (91). Solid organ ve HKHN'den sonra görülen fırsatçı

enfeksiyonların en sık nedeni CMV'dir. Transplantasyondan sonra primer CMV enfeksiyonuna bağlı CMV hastalığı gelişme riski %40-60 civarındadır ve sıklıkla ilk 3 ayda görülür. En riskli grup alıcının seronegatif, vericinin seropozitif olduğu durumdur (92).

CMV, tükürük bezi, fibroblastlar ve duktal epitel hücrelerini enfekte ederek çeşitli dokuların tutulduğu yaygın bir enfeksiyona yol açmaktadır. Tükürük bezi tutulumu genellikle kronik olup bebek ve çocuklarda sıktır; yaşla birlikte azalır. CMV, litik bir virüstür ve sitomegalik hücrelerle karakterize sitopatik etkiye neden olur. Enfekte hücreler ve nükleuslarında belirgin genişleme olur. Sitoplazmanın genişlemesi ise daha azdır. Perinükleer sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ve intranükleer inklüzyonlar görülür. Çok çekirdekli dev hücreler oluşur. Çekirdekte oluşan inklüzyonlar bu virüse özgü bir görünüm oluşturur. Etrafı boşlukla çevrelenmiş çok sayıda inklüzyon cisimciğinin oluşturduğu bu görünüm tipik nişan tahtası ya da baykuş gözüne benzetilir ve 'owl eye' inklüzyon cisimcikleri olarak adlandırılır (92).

Primer CMV enfeksiyonunda hücresel immünite baskılanır ve aylar sonra normale döner. Normal konakta primer CMV enfeksiyonunu takiben virüs latent olarak kalır. Latentlik mekanizması ve bölgeleri tam olarak anlaşılamamıştır. Virüsün monosit/makrofaj, lenfositler, nötrofil lökositler, böbrek epitel hücreleri, vasküler endotel hücreleri ve tükürük bezlerinde latent kaldığı düşünülmektedir (92). CMV hastalığının patogenezinde; virüsün hücreye bağımlı yapısı ve sistemik kan dolaşımı ile tüm vücuda yayılması önemlidir. Normal konakta primer CMV enfeksiyonunu takiben uzun süreli immünite gelişerek viral persistansı kontrol eder.

Geçirilmiş enfeksiyonun en iyi göstergesi humoral immüniteyken, CMV' ye karşı en önemli konak savunması hücresel yanıttır (96).

2.8.4.3. Klinik önemi

Klinik olarak; CMV enfeksiyonu ve CMV hastalığı olarak iki gruba ayrılmaktadır. CMV enfeksiyonu; asemptomatik hastalarda virüsün izole edilmesi, antikor varlığı veya viral DNA'nın gösterilmesidir. CMV hastalığı ise; CMV enfeksiyonuna ek olarak; açıklanamayan yüksek ateş, halsizlik, lökopeni ve trombositoz tablosunun görülmesidir. CMV; akciğer, gastrointestinal sistem, karaciğer, retina başta olmak üzere tüm organlarda tutulum yapabilmektedir (97).

Konjenital enfeksiyonlar içinde en sık CMV enfeksiyonu görülmektedir (91). Konjenital enfeksiyon, annenin primer enfeksiyonu veya virüs reaktivasyonu sonucu transplasental olarak ya da süt aracılığıyla gerçekleşmektedir. Konjenital enfeksiyonlarda; intrauterin gelişme geriliği, sarılık, peteşi, purpura, pnömoni, koryoretinit gibi tablolar görülebilmektedir (98).

Normal konaklarda CMV enfeksiyonlarının çoğu subklinikdir. Primer enfeksiyon; temastan 4-8 hafta sonra ateş, döküntü, lenfositoz, anormal karaciğer testleri ile karakterizedir. Primer CMV enfeksiyonu immün yetmezliği olan konaklarda normal konaklara göre daha ağır seyreder. Primer enfeksiyon sonrası virüs latent fazda monosit, makrofaj, endotelial hücreler gibi hücrelerde ömür boyu tespit edilebilmektedir. İnflamasyon, stres, immünsüpresyon durumunda latent virüs reaktivasyon gösterebilir ve CMV hastalığı gelişebilir. CMV reaktif olduktan sonra, dolaşımdaki lökositlerde özellikle granülositlerde, klinik ortaya

çıkmadan önce saptanır ve enfekte lökositlerle vücudun çeşitli organlarına taşınır (96).

2.8.4.4. Laboratuvar tanısı

CMV enfeksiyonu tanısında histopatolojik inceleme, hücre kültüründe virüs izolasyonu, antijenemi testi, serolojik testler ve nükleik asit amplifikasyon testleri kullanılabilir.

CMV ile enfekte biyopsi veya otopsi materyalinin rutin kesitlerinde; bazofilik intranükleer inklüzyonları olan karakteristik büyük hücreler (sitomegalik hücreler) ve nadiren eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar, Wright-Giemsa, Hematoksilen-eozin veya Papanicolaou boyası ile görülebilmektedir. Nükleer inklüzyon 'baykuş gözü' görünümüne sahiptir; sınırı belirgin bir kromatin içerir ve bu kromatinin etrafını çevreleyen açık alan nükleer membrana kadar uzanır. Histopatolojik testlerde karakteristik sitolojik değişikliklerin varlığı, CMV enfeksiyonunu düşündürmektedir ve PZR gibi moleküler yöntemlerden daha az duyarlı olmakla birlikte, çoğu durumda aktif hastalık ile ilişkilidir. CMV hastalığının histopatolojik tanısı zaman alıcı ve zahmetlidir. CMV morfolojik değişiklikler yapmadan dokuları enfekte edebildiği için tipik sitomegalik hücrelerin bulunmaması CMV enfeksiyonu olasılığını dışlamaz; ek virolojik veya serolojik doğrulama yapılması önerilmektedir (91).

CMV tanısında hücre kültürü altın standart yöntem olarak kabul edilir ve bu amaçla CMV'nin replikasyonunu en iyi şekilde gözlendiği insan fibroblastları kullanılır. Klinik örneklerde CMV'nin saptanması için konvansiyonel hücre

kültürleri ve shell vial yöntemi kullanılmaktadır. CMV tanısında hücre kültürlerinin kullanımı, daha verimli olan kültür bazlı olmayan saptama metodlarının kullanım kolaylığı nedeniyle azalmıştır. Hücre kültüründe çoğu örnek sitopatik etkinin görülebilmesi için en az 4 hafta boyunca incelenmektedir (91).

Shell vial hücre kültürü, klinik örneklerde CMV'nin saptanması için hızlı kültür yöntemi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve çoğu laboratuvarında konvansiyonel hücre kültürünün yerini almıştır. Teknik, düşük hızda santrifüjleme işleminden sonra virüsün hücre kültürlerinde çoğaltılması esasına dayanır ve sitopatik etki gelişmeden önce, CMV replikasyonunda erken dönemde üretilen viral antijenleri tespit etmektedir. CMV erken antijenlerinin tespiti için monoklonal antikorlar ticari olarak mevcuttur. Pozitif hücrelerde, kırmızı bir sitoplazmik zeminde sarı-elma yeşili floresan veren nükleuslar tespit edilir. Shell vial hücre kültürünün önemli özellikleri hızlı, özgül ve duyarlı olmasıdır. Ancak uzman teknik personel gerektirir ve optimum performans için örneklerin ve reaktiflerin kalitesine dikkat edilmesi gerekir (91).

CMV antijenemi testi, CMV enfeksiyonunun erken teşhisi için duyarlı, özgül ve hızlı bir yöntemdir. Solid organ ve hematopoietik kök hücre transplant alıcıları, insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfekte hastalar ve immünomodülatör ilaçlar ile tedavi edilen hastalar gibi ciddi CMV hastalığı için yüksek risk taşıyan hastaların rutin olarak izlenmesi için kullanılabilir. Testin uygulanması nispeten basittir ve periferik kan lökositlerinin nükleusunda 65 kDa alt-matriks fosfoproteininin (pp65) immünohistokimyasal tespitine dayanan semikantitatif bir testtir. Bu test kullanılarak CMV, semptomların başlangıcından

önce tespit edilebilmektedir (91). Özellikle kök hücre nakillerinin erken döneminde görülen nötropeni antijenemi testinin duyarlılığı azaltmaktadır. Bu durumda viral genomun PZR gibi amplifikasyon teknikleri ile gösterilmesi daha yararlı bir uygulamadır (99).

CMV IgM ve CMV IgG gibi CMV'ye özgü antikorların saptandığı serolojik testlerde tanı amacıyla kullanılmaktadır. CMV IgM veya IgG antikorlarının tespiti için duyarlık ve özgüllükleri yüksek ELISA, IFA, lateks aglütinasyon testi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Hangi testin yapılacağına karar verirken, test edilecek örnek sayısı, hasta popülasyonu, ekipman ihtiyacı, çalışma süresi, uygulama kolaylığı ve maliyet gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Seçilen yöntem, laboratuvarların ihtiyaçlarına göre değişmektedir. IFA testleri, küçük kapasiteli laboratuvarlar için daha düşük maliyetli ve pratikken, ELISA testleri yüksek sayıda örnek kapasitesi olan laboratuvarlar için daha uygun olabilmektedir. Serolojik tanıda, immün kompetan kişilerde CMV IgM antikorlarının varlığı veya akut ve iyileşme dönemlerinde alınan iki farklı serum örneğinde CMV IgG titresinde 4 kat artışın saptanması, akut enfeksiyon göstergesidir (92). Ancak, immün yetmezlikli olgulardaki akut CMV enfeksiyonlarının tanısında CMV IgM tayininin değeri yoktur, testin duyarlılığı düşüktür (100). Bu tip hastalarda akut enfeksiyon sırasında CMV IgM bazen saptanamamakta, bazen de akut dönem geçtikten sonra uzun süre pozitif kalmaktadır. Ayrıca CMV reaktivasyonu sırasında da pozitifleşmekte, dolayısıyla primer enfeksiyonun ayırt edilmesine yardımcı olmamaktadır. CMV IgG tayini, doğurganlık çağındaki kadınların ve transplant alıcılarının primer enfeksiyona duyarlı olup olmadıklarının anlaşılmasında, epidemiyolojik

Çalışmalarda, serokonversiyonun takibinde gereklidir (96). CMV IgG avidite testleri primer enfeksiyon ve reaktivasyonun belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır.

Yıllar içinde moleküler amplifikasyon testleri, CMV enfeksiyonlarının tanı ve izleminde antijenemi testi ve diğerk moleküler olmayan testlerin yerini almıştır. PZR; CMV DNA saptanması için en çok tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemdir (91). Teknik genellikle CMV DNA'nın iyi korunmuş bölgeleri içindeki erken ve geç antijen genlerini hedeflemektedir. DNA; tam kan, lökosit, plazma, doku biyopsi örnekleri, idrar, BOS ve bronkoalveolar lavaj sıvısı gibi örneklerden izole edilebilmektedir. PZR; transplant alıcıları, edinilmiş bağışıklık yetmezliğı sendromu (AIDS) olan ve konjenital enfeksiyonu bulunan bebeklerden alınan çeşitli klinik örneklerde CMV DNA tespiti için oldukça etkili bir yöntemdir. Ayrıca, immün sistemi baskılanmış hastaların izlemi ve antiviral ilaçların terapötik etkinliğinin değerkendirilmesi için kullanılmaktadır (100). CMV enfeksiyonunda PZR'nin sensitivitesi %93, spesifitesi %96 olarak bildirilmiştir.

2.8.4.5. Tedavi ve korunma

İmmünsüpresif olmayan bireylerde CMV enfeksiyonu çoğunlukta kendisini sınırlamakta ve destek tedavisinin verilmesi yeterli olmaktadır. İmmünsüpresif hastalarda ise proflaktik veya pre-emptif tedavide antiviral ajanlar kullanılmaktadır (101). Proflaksi, CMV enfeksiyonu açısından yüksek riskli hastalar için, preemptif tedavi ise taramalarda saptanan vireminin, invaziv hastalığa ilerlemesini önlemek için uygulanan antiviral tedavidir. Günümüzde CMV tedavisinde gansiklovir,

valgansiklovir, foscarnet, siddofovir, fomivirsen, maribavir ve letermovir kullanılmaktadır (102). CMV tedavisinde onaylanan ilk antiviral ilaç olan gansiklovir, transplantasyon sonrası CMV'nin önlenmesi ve tedavisi için ilk basamak ilaç olarak uygulanmaktadır (103).

2.9. POLYOMA VİRÜSLER

Polyomavirüsler ilk olarak 1953 yılında Ludwig Gross tarafından farelerde tümör oluşturan ajan olarak tanımlanmıştır. Özellikle, lösemi dokularının hücre içermeyen ekstrelerinin enjekte edildiğı yenidoğan fareler, lösemiye ek olarak parotis bezi adenokarsinomlarını geliştirmiştir. Bu durum bir enfeksiyöz ajanın malignitelerin sebebi olabileceğini düşündürmüştür. Bu enfeksiyöz ajan, Yunanca ‘poly’ yani ‘çoklu’ ve onkojenik etkisi sebebiyle ‘oma’ yani ‘kanser’ anlamına gelen kelimelerle adlandırılmıştır (104). Polyomavirüsler; memelileri, kuşları ve balıkları doğal konakçı olarak kullanan; küçük, zarfsız, çift sarmallı DNA’ya sahip virüslerdir. Keşfedilen ilk iki insan polyomavirüsü; BK polyomavirüs ve JC polyomavirüstür (105).

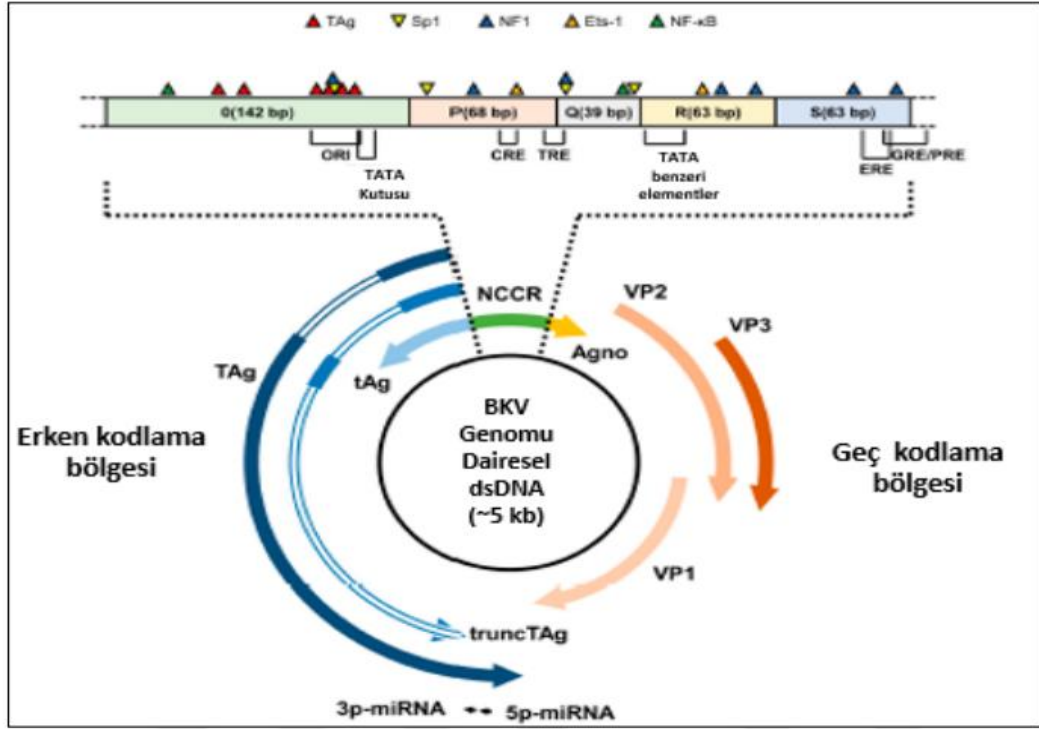
2.9.1. BK VİRÜS (BKV)

2.9.1.1. Genel özellikleri

BK virüsü ilk olarak 1971 yılında Gardner ve arkadaşları tarafından kronik piyelonefrit ve ileri böbrek yetmezliğı nedeniyle böbrek nakli geçirmiş, isminin baş

harfleri B.K. olan 39 yaşındaki Sudanlı erkek bir hastanın idrarından izole edilmiştir ve keşfedildiği hastanın isminin baş harfleri ile adlandırılmıştır (106).

BK virüs, Polyomaviridae (eski Papovaviridae) ailesinde yer alan; 45- 50 nm boyutlarında küçük, zarfsız ve ikozahedral simetricali bir DNA virüsüdür (107). BK virüsün yaklaşık 5 kb boyutundaki genomu; erken bölge, geç bölge ve kodlama yapmayan bölge olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Sarmal üzerindeki erken bölge yapısal olmayan T proteinlerini, geç bölge ise üç viral kapsid proteinini kodlamaktadır. Kodlama yapmayan bölge ise DNA replikasyon orijini ile birlikte hem erken hem de geç genler için transkripsiyonel kontrol bölgelerini içermektedir. Ayrıca erken bölge; iki fonksiyonel miRNA üreten bir pre-miRNA kodlamaktadır (108, 109). Virüs kapsidi; VP1, VP2 ve VP3 yapısal proteinlerden ve viral genomu kapside bağlayan 72 kapsomerden oluşmaktadır (110). Ana kapsid proteini olan VP1, kapsidin yüzeyinde bulunmaktadır. Virüsün hücrelere bağlanmasından ve antijenik çeşitlilikten sorumludur (111, 112). Minör kapsid proteinleri VP2 ve VP3 üzerinde bulunan nükleer lokalizasyon sinyalleri, virüsün hücre çekirdeğine geçişini kolaylaştırmaktadır (104). şekil 12’de BKV genom yapısı gösterilmiştir (106).



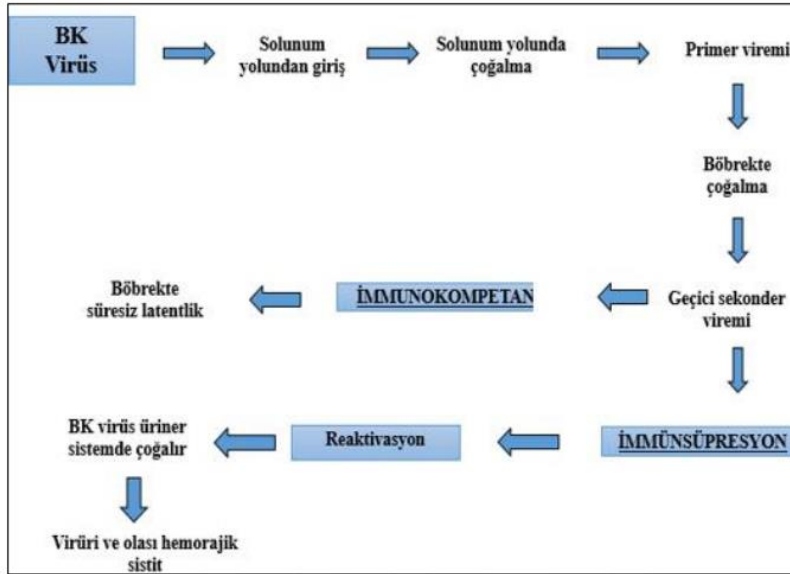
Şekil 12. BKV genomu (106)

2.9.1.2. Epidemiyoloji ve Patogenez

Genel popülasyonun %90'ından fazlası BKV ile enfekte olmuş durumdadır (113). Bununla birlikte virüsün bulaş yolları hala belirsizliğini korumaktadır. Ancak BKV'nin çevresel inaktivasyona karşı direnci ve kanalizasyon ile diğer su kaynaklarındaki yüksek konsantrasyonlardaki varlığı, fekal-oral bulaşı göstermektedir (114). BK virüs bulaşının diğer potansiyel yolları arasında transplasental geçiş, idrar ile bulaş, semen, kan ürünlerinin transfüzyonu ve organ transplantasyonu bulunmaktadır (115). Primer enfeksiyondan sonra immünitesi sağlam bireylerde latent kalmaktadır ve herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır. Sağlıklı bireylerin yaklaşık %5'inde asemptomatik düşük düzeyli virüri görülebilmektedir. Latent BKV'nin klinik olarak reaktivasyonu, HIV enfeksiyonu

veya transplantasyon gibi bağıışıklığı baskılanmış bireylerde ortaya çıkmaktadır. İmmünokompetan bireylerde, BKV üroepitelyal hücrelerde ve tübüler epitelde herhangi bir komplikasyon olmadan latent olarak kalmaktadır (116, 117).

BKV, solunum yollarında çoğalmakta ve daha sonra kan dolaşımı ile diğer organlara yayılmaktadır. Latent enfeksiyon, renal epitel ile lenfoid hücrelerde bulunmakta ve genellikle önemli bir klinik etki göstermemektedir. BK virüs genellikle immünokompetan konaklarda böbrekte latent olarak kalır. İmmünsüpresyon durumlarında ise yeniden aktive olur (108, 116). Şekil 13'te BK virüsün vücutta yayılım mekanizması gösterilmiştir (72).



Şekil 13. BK virüsün vücutta yayılım mekanizması (72)

2.9.1.3. Klinik önemi

BK virüs; böbrek, üreter ve mesane epitel dokusunu etkileyen ürotelyotropik bir virüstür. Bağıışıklık sistemi baskılanmış bireylerde BKV enfeksiyonu farklı hasta gruplarında farklı patolojilere yol açmaktadır. Böbrek nakli

alıcılarında nefropati ve üretral stenoz ile ilişkili iken, hematopoietik kök hücre nakli alıcılarında ise hemorajik sistit ile ilişkilidir. BKV ile ilişkili hemorajik sistit, mesane mukozasında inflamasyonun neden olduğu ağrılı hematüri ile karakterizedir. Hemorajik sistit böbrek nakli alıcılarında nadiren görülmektedir (107, 118, 119).

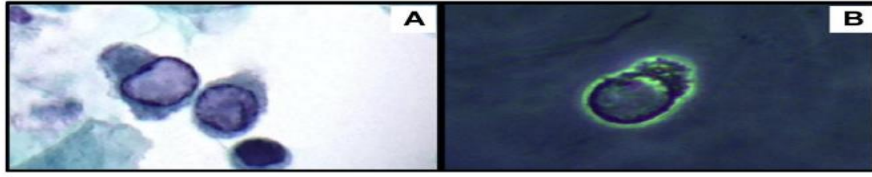
Kök hücre nakli hastalarında hemorajik sistit genellikle transplantasyondan yaklaşık 2 ay sonra gelişmektedir. Hematüri, dizüri, sık idrar çıkış ve suprapubik ağrı yapabilmektedir. Ayrıca şiddetli kanama ve pıhtı oluşumu ile idrar yolu tıkanıklığı ve böbrek yetmezliği komplikasyonları da görülebilmektedir (120).

2.9.1.4. Laboratuvar tanısı

BK virüsü tespit etmek için kullanılan yöntemler enfeksiyonun patogenezinin dayanmaktadır. Viral replikasyon, transplantasyondan hemen sonra başlar ve ilk olarak virürü olarak kendini gösterir. Ardından 4-5 hafta sonra viremi olarak devam eder. BKV tanısı; idrar sitolojisi (idrar decoy hücreleri), virüsün PZR ile tespiti (kan, idrar ve/veya böbrek dokusu) ve virüsün üç boyutlu yapısına dayanan elektron mikroskopi yöntemine dayanmaktadır. BK virüs taramasında yaygın olarak idrar ve kan örneklerinden nükleik asit bazlı kantitatif viral yük tayini yapılmaktadır (121, 122) .

BKV ile enfekte olmuş tübüler epitel hücreleri idrar ile atılmaktadır ve bu hücreler ‘decoy hücreleri’ olarak adlandırılmaktadır. Decoy hücreleri, BKV replikasyonunun morfolojik belirleyicileridir. Viral inklüzyonları olan, büyük, bazofilik çekirdekleri vardır ve üroepitelyal kanserde görünenlerle benzer bir

görünümüne sahiptirler (120). Decoy hücrelerinin varlığı ayrıca JC virüs enfeksiyonlarında da görülmektedir (10). Bu yöntem ile farklı tür Polyomavirüslerin ayrımı yapılamamaktadır (123). Şekil 14'te decoy hücrelerinin mikroskopik görüntüsü verilmiştir (124).



Şekil 14. Decoy hücrelerinin mikroskopik görünümü a. Papanicolau boyalı preparat x400 büyütme b. Faz-kontrast mikroskobu ile x400 büyütme (124)

BKV virüsünün tespiti için bir başka yöntem de elektron mikroskopi ile viral partiküllerin veya 'Haufen' olarak adlandırılan üç boyutlu polyomavirüs agregatlarının saptanmasına dayanmaktadır. Bu yöntemin BKV nefropatisi için pozitif ve negatif prediktif değeri oldukça yüksektir. Ayrıca bu yöntem ile BKV nefropatisi, non-invaziv olarak tespit edilebilmektedir. Ancak oldukça yüksek maliyeti, rutin olarak kullanılmasını kısıtlamaktadır (107).

BKV enfeksiyon tanısında, PZR yöntemi ile idrarda viral DNA'nın kantitatif tayini en sık kullanılan yöntemdir (116). İdrarda BKV viral yükünün negatif olarak tespiti, yaklaşık %100 negatif prediktif değere sahiptir (121). Gerçek zamanlı-PZR yöntemi, BKV viral yük ölçümü için kullanılan temel teknolojidir. Bu yöntem kısa uygulama zamanı ve düşük kontaminasyon nedeni ile tercih edilmektedir. İdrar örneğinde BK viral yükünün tespit edilmesinin klinik olarak daha faydalı olduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. BK virüsü, virüs replikasyonunun ilk işaretidir. Bu nedenle önleme ve erken tanı amacıyla BK viral

yükünün idrarda izlenmesi gerekmektedir (125). BKV viremi için PZR sensitivitesi %100 ve spesifitesi %94 olarak saptanmıştır (40).

2.9.1.5. Tedavi ve korunma

BKV enfeksiyonunun tedavisinde amaç; böbrek fonksiyonlarını korumak, akut veya kronik reddi önlemek ve virüsü ortadan kaldırmaktır (126). BKV enfeksiyonunda; viral yükün izlenmesi ve uygun bir şekilde immün baskılanmasının azaltılması ile BKV nefropatisinin önlendiği ve greft sağ kalımının artırıldığı gösterilmiştir (115).

BKV nefropatisi için tedavinin temelini, günümüzde spesifik bir anti-viral olmadığı için immün baskılamayı azaltmak oluşturmaktadır (10, 116). BKV tedavisinde bugüne kadar, ilaç tedavisinin faydaları sadece düşük olgu sayılı çalışmalarda gösterilmiştir. Leflunomid, cidofovir, intravenöz immünoglobulinler veya siprofloksasinin standart immünsüpresyon azaltımına eklenmesini değerlendiren sistematik incelemeler greft sağ kalımında genel bir iyileşme olduğunu göstermemiştir (109).

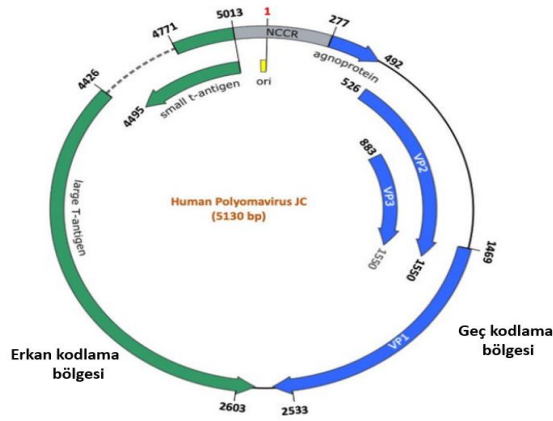
2.9.2. JC VİRÜS (JCV)

2.9.2.1. Genel özellikleri

JC virüs ilk olarak 1971 yılında Padgett ve Walker tarafından Progresif Multifokal Lökensefalopati (PML) gelişmiş Hodgkin lenfoma hastasının beyin

dokusunun otopsi örneklerinden izole edilmiştir ve keşfedildiği hastanın isminin baş harfleri ile adlandırılmıştır (127).

JCV, *Polyomaviridae* (eski *Papovaviridae*) ailesinde yer alan; küçük, zarfsız ve ikozahedral kapsidde bulunan çembersel bir genoma sahip çift sarmallı bir DNA virüsüdür (128). JCV'ün genomu; düzenleyici proteinleri (büyük ve küçük tümör antijenleri) kodlayan erken viral gen bölgesi, yapısal proteinleri (VP1, VP2 ve VP3) ve birden fazla düzenleyici işleve sahip 'agnoprotein' denilen küçük sitoplazmik bir proteini kodlayan geç viral gen bölgesi ile erken ve geç gen transkripsiyondan sorumlu kontrol bölgeleri içeren kodlama yapmayan bölge olmak üzere üç ana bölgeye ayrılır. Şekil 15'te JC virüs genom yapısı gösterilmiştir (129).



Şekil 15. JCV genom yapısı (129)

2.9.2.2. Epidemiyoloji ve Patogenez

JCV primer enfeksiyonu tipik olarak çocukluk çağında ortaya çıkar. Çocukların %50'sinde 10-15 yaşlarında serokonversiyon mevcuttur (10). Serokonversiyon yaşla birlikte artmakta ve 60 yaşına kadar %80'e ulaşmaktadır

(130, 131). JCV bulaşının; yakın temas, kontamine yüzeyler, yiyecek ve su yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir (132). Çocukluk çağında ortaya çıkan asemptomatik primer enfeksiyondan sonra virüs; böbreklerde, kemik iliğinde ve lenfoid dokuda latent kalmaktadır (133). Asemptomatik virüsü hem sağlıklı hem de immün sistemi baskılanmış hastalarda görülmektedir (134). Hematojen yayılım; böbrek, kemik iliği, lenfoid doku ve beyin dahil olmak üzere sekonder bölgelerin enfeksiyonuna aracılık etmektedir (133).

2.9.2.3. Klinik önemi

PML, JC virüs enfeksiyonu ile ilişkili olarak immün sistemi baskılanmış konakçılarda ortaya çıkan bir hastalık sürecidir. Bilişsel bozulma, yürüme ve koordinasyon anormallikleri, ekstremitte paralizisi ve nöbet semptomları ile beyaz cevherin ilerleyici demiyelinizasyonunu içerir (135). Prognoz genellikle kötüdür ancak hücrel immün yanıtın artırılması ile ilişkili çalışmalarda daha iyi prognoz gözlemlenmiştir (136). Bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) dahil olmak üzere nörogörüntüleme çalışmaları, beyaz cevher lezyonlarının görüntülenmesine yardımcı olarak PML tanısında kullanılmaktadır. MRG'nin, PML tanısı için BT'den daha duyarlı bir yöntem olduğu kabul edilmektedir (137).

2.9.2.4. Laboratuvar tanısı

JC virüs enfeksiyonlarının genellikle asemptomatik belirtilerle seyretmesi nedeniyle klinik tanı konulması mümkün değildir. İmmünsüpresif hastalarda tanı

genellikle sitolojik inceleme, biyopsi ve/veya moleküler yöntemlerle konulmaktadır. PML’de, beyin biyopsisi %64-96 duyarlılık ve %100 özgüllük ile tanı için altın standart yöntem olarak kabul edilir (138). Histolojik olarak, anormal astrositler ve makrofajlarda demiyelinizasyon ve gliosis bulguları mevcuttur (139). Beyin dokusunun elde edilmesindeki zorluk ve risk nedeniyle, genellikle JCV için BOS analizi kullanılır. JC virüs enfeksiyonunda BOS profili, hafif pleositoz, hafif derecede yüksek protein ve normal glikoz ile spesifik olmayan değişiklikler gösterir. JCV’nin PZR ile BOS’ta saptanma sensitivitesi %72-92, spesifitesi %92-100 olarak bulunmuştur (42).

2.9.2.5. Tedavi ve korunma

JC virüsü için spesifik bir antiviral tedavi yoktur. Bununla birlikte, HIV ile enfekte olan hastalarda, antiretroviral terapinin başlatılması bir yılda PML sağkalım oranının %10’dan %50’ye yükselmesi ile ilişkilendirilmiştir (140). HIV negatif olan hastalar için, bağışıklık baskılanmasının azaltılması yoluyla bağışıklık durumunun iyileştirilmesi, kazanılmış bağışıklık sisteminin enfeksiyonu kontrol altına almasına izin vermektedir. JCV’ye karşı güçlü bir hücresel bağışıklık, daha iyi bir klinik sonuç ile ilişkili olduğu için, bu bağışıklık tepkisini artırmaya yönelik tedaviler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (141).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmamızda, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Erişkin Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde 1 Temmuz 2018 ile 30 Haziran 2022 tarihleri arasında HKHN yapılan ve takip edilen 350 hastanın laboratuvarımızda kayıtlı bulunan HSV-1/2, EBV, CMV, BKV ve JCV PZR sonuçları incelenmiştir. Hastaların yaş ve cinsiyet bilgileri, tanıyı aldıkları tarih, eşlik eden kronik hastalık (komorbid hastalık), altta yatan hematolojik hastalık, tanı tarihi, nakil tarihi, nakil tipi, kök hücre kaynağı, nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimi türü ve HLA uyumları retrospektif olarak analiz edilmiştir.

3.2. Kullanılan Test Kiti, Malzeme ve Cihaz

- Vorteks (Velp ® Scientifica Rx3)
- Santrifüj (National Labnet Co. Mini Centrifuge)
- 1-10 µl, 10-100 µl ve 100-1000 µl mikropipet ve uyumlu pipet ucu (DNaz ve RNaz içermeyen)
- 1,5 ml ve 2 ml'lik ependorf tüpleri
- EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya). Kit içeriği tablo 4'te gösterilmiştir.
- EZ1 Advanced (Qiagen, Almanya)

- QIAAsymphony DSP Virüs/ Patojen midi kit (Qiagen, Almanya). Kit içeriği tablo 5’te gösterilmiştir.
- Artus CMV QS-RGQ MDx kit (Qiagen, Almanya). Kit içeriği tablo 6’da gösterilmiştir.
- Artus HSV1/2 RG PZR kit (Qiagen, Almanya). Kit içeriği tablo 7’de gösterilmiştir.
- Artus® EBV Virus RG PZR Kiti (Qiagen, Almanya). Kit içeriği tablo 8’de gösterilmiştir.
- Artus® BK Virus RG PZR Kit (Qiagen, Almanya). Kit içeriği tablo 9’da gösterilmiştir.
- RealStar® JCV PZR Kit 1.0 (Altona, Almanya). Kit içeriği tablo 10’da gösterilmiştir.
- Rotor Gene Q (Qiagen, Almanya) ısı döngü cihazı
- QIASYMPHONY SP-AS cihazı (Qiagen, Almanya)
- Biyogüvenlik kabini (BGD 2)
- Buz aküsü

3.3. Örneklerden Nükleik Asit İzolasyonu

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Viroloji Laboratuvarı’na gönderilen HKHN yapılmış hastalara ait kan, idrar, BOS örnekleri çalışma kapsamına

alınmıştır. Gönderilen kan örnekleri 3000 rpm’de 4 dakika santrifüj edilip serum kısmı ayrılarak, idrar ve BOS örneklerine ise herhangi bir işlem uygulanmadan çalışma yapılınca kadar -20°C’de saklanmıştır. CMV PZR çalışılacak numuneler, viral nükleik asitlerin tam otomatik ve eş zamanlı izolasyonu için manyetik partikül teknolojisinin kullanıldığı QIASymphony DSP Virus/Patojen Midi Kit (QIAGEN, Almanya) kullanılarak; HSV-1/2, EBV, BKV ve JCV PZR çalışılacak örnekler ise viral nükleik asitlerin izolasyonu için ticari otomatize bir sistemin kullanıldığı EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4. EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) İçeriği

EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) İçeriği
Reaktif kartuşu
Elüsyon tüpü (1,5 mL)
Örnek tüpü (2 mL)
Pipet ucu
Pipet ucu tutucusu
Carrier RNA (Qiagen, Hilden, Almanya)
Buffer AVE (Qiagen, Hilden, Almanya)

Tablo 5. QIASymphony DSP Virüs/ Patojen midi kit (Qiagen, Almanya) İçeriği

QIASymphony DSP Virüs/ Patojen midi kit (Qiagen, Almanya) İçeriği
Reaktif kartuşu
Delme kapağı
Enzim askısı
Carrier RNA (Qiagen, Hilden, Almanya)
Buffer AVE (Qiagen, Hilden, Almanya)

Örnekler -20°C’den alınarak PZR işlemi için oda ısısında çözdürülmüştür.

Ardından çözölmüş olan örnekler vortekslenmiştir. CMV çalışılacak numunelerde

nükleik asit izolasyonu ticari otomatize bir sistem olan QIAAsymphony SP cihazında Cellfre 500 protokolü kullanılarak QIAAsymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kit (QIAGEN, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Kitin belirtmiş olduğu protokole uygun olarak, hasta başına 36 µl Internal kontrol, 20 µl Carrier RNA ve 424 µl Buffer AVE ile bir karışım hazırlanıp cihaza yerleştirilmiştir. Nükleik asit izolasyonu işlemi için 2 ml'lik vidalı kapaklı tüplere 600 µl hasta örnekleri alınmıştır. Cihazın çalışma prensibine uygun şekilde; hazırlanmış olan karışım, hasta örnekleri, boş elüsyon tüpleri, pipet uçları ve pipet tutucular cihaza yerleştirilmiştir. Cihaz izolasyon işlemi sonunda elüsyon hacmi 60 µl olacak şekilde ayarlanarak çalıştırılmıştır.

HSV-1/2, EBV, BKV ve JCV çalışılacak örneklerde nükleik asit izolasyonu ticari otomatize bir sistem olan EZ1 Advanced (Qiagen, Almanya) cihazı kullanılarak EZ1® Virüs Mini Kit v2.0 (Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Kitin belirtmiş olduğu protokole uygun olarak, hasta başına 6 µl Internal kontrol, 3,8 µl Carrier RNA ve 50,2 µl Buffer AVE ile bir karışım hazırlanmıştır. Bu karışım her hasta için 1,5 ml'lik elüsyon tüplerine 60 µl olarak ayrılmıştır. Nükleik asit izolasyonu işlemi için 2 ml'lik vidalı kapaklı tüplere 400 µl hasta örnekleri alınmıştır. Cihazın çalışma prensibine uygun şekilde; hazırlanmış olan karışım, hasta örnekleri, boş elüsyon tüpleri, pipet uçları ve pipet tutucular cihaza yerleştirilmiştir. Cihaz izolasyon işlemi sonunda elüsyon hacmi 90 µl olacak şekilde ayarlanarak çalıştırılmıştır.

3.4. Amplifikasyon ve Görüntüleme

Saflaştırılan örneklerin amplifikasyonu işlemi CMV için Artus CMV QS-RGQ MDx kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 6. Artus CMV QS-RGQ MDx Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği

Artus CMV QS-RGQ MDx Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği
CMV RG master
CMV RG İnternal kontrol
CMV Magnezyum solüsyonu
CMV Kantitasyon standardı 1 (1×10^4 kopya/ μ l)
CMV Kantitasyon standardı 2 (1×10^3 kopya/ μ l)
CMV Kantitasyon standardı 3 (1×10^2 kopya/ μ l)
CMV Kantitasyon standardı 4 (1×10 kopya/ μ l)
Su (PZR'ye uygun)

Bu test kit ile CMV genomunun 105 bp'lik bir bölgesinin spesifik amplifikasyonu sağlanmaktadır. Kullanılacak olan kit -20°C de muhafaza edilmiştir. İşlem öncesinde gerekli malzemeler oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Çözöldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılmıştır. Her hasta için 25 μ l master miks ve 5 μ l magnezyum solüsyonundan oluşan karışım hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan bu karışımdan 30 μ l amplifikasyon tüplerine alınmış ve üzerine 20 μ l hasta izolatından ilave edilmiştir. CMV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PZR döngü protokolüne göre cihaz çalıştırılmıştır.

HSV-1/2 için amplifikasyon işlemi Artus HSV-1/2 RG PZR kit (Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7. Artus HSV-1/2 RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği

Artus HSV1/2 RG PZR Kiti (Qiagen, Almanya) İçeriği
HSV-1/2 RG Master
HSV-1/2 RG Master RG İnternal kontrol
HSV-1/2 RG Master Magnezyum solüsyonu
HSV-1 RG Pozitif kontrol
HSV-2 RG Pozitif kontrol
Su (PZR'ye uygun)

Bu kit ile HSV-1 ve HSV-2 genomlarının 154 bp'lik bir bölgesinin spesifik amplifikasyonu sağlanmaktadır. Kullanılacak olan kit -20°C de muhafaza edilmiştir. İşlem öncesinde gerekli malzemeler oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Çözöldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılmıştır. Her hasta için 25 µl master miks ve 5 µl magnezyum solüsyonundan oluşan karışım hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan bu karışımdan 30 µl amplifikasyon tüplerine alınmış ve üzerine 20 µl hasta izolatından ilave edilmiştir. HSV-1/2 için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PZR döngü protokolüne göre çalışılmıştır.

EBV için amplikasyon işlemi Artus® EBV Virüs RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 8. Artus® EBV Virüs RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği

Artus® EBV Virüs RG PZR Kiti (Qiagen, Almanya) İçeriği
EBV RG master
EBV RG İnternal kontrol
EBV RG Kantitasyon standardı 1 (5×10^4 kopya/ μ l)
EBV RG Kantitasyon standardı 2 (5×10^3 kopya/ μ l)
EBV RG Kantitasyon standardı 3 (5×10^2 kopya/ μ l)
EBV RG Kantitasyon standardı 4 (5×10 kopya/ μ l)
Su (PZR'ye uygun)

Bu kit ile EBV genomunun 97 bp'lık bir bölgesinin spesifik amplifikasyonu sağlanmaktadır. Kullanılacak olan kit -20°C de muhafaza edilmiştir. İşlem öncesinde gerekli malzemeler oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Çözöldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılmıştır. Her hasta için 30 μ l master miks hazırlanıp üzerine 20 μ l hasta izolatından ilave edilmiştir. EBV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PZR döngü protokolüne göre çalışılmıştır.

BKV için amplifikasyon işlemi Artus® BK Virüs RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 9. Artus® BK Virüs RG PZR Kit (Qiagen, Almanya) İçeriği

Artus® BK Virüs RG PZR Kiti (Qiagen, Almanya) İçeriği
BK Virüs RG master
BK Virüs RG Magnezyum solüsyonu
BK Virüs RG İnternal kontrol
BK Virüs RG Kantitasyon standardı 1 (1×10^4 kopya/ μ l)
BK Virüs RG Kantitasyon standardı 2 (1×10^3 kopya/ μ l)
BK Virüs RG Kantitasyon standardı 3 (1×10^2 kopya/ μ l)
BK Virüs RG Kantitasyon standardı 4 (1×10 kopya/ μ l)
Su (PZR'ye uygun)

Bu kit ile BK virüs genomunun 274 bp'lık bir bölgesinin spesifik amplifikasyonu sağlanmaktadır. Kullanılacak olan kit -20°C de muhafaza edilmiştir. İşlem öncesinde gerekli malzemeler oda sıcaklığında çözündürülmüştür. Çözöldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılmıştır. Her hasta için 7 µl master miks ve 3 µl magnezyum solüsyonundan oluşan karışım hazırlanır. Hazırlanmış olan bu karışımdan 10 µl amplifikasyon tüplerine alınmış ve üzerine 15 µl hasta izolatından ilave edilmiştir. BKV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PZR döngü protokolüne göre çalışılmıştır.

JCV için amplifikasyon işlemi RealStar® JCV PZR Kit 1.0 (Altona, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 10. RealStar® JCV PZR Kit 1.0 (Altona, Almanya) İçeriği

RealStar® JCV PZR Kit 1.0 (Altona, Almanya) İçeriği
JC Virüs Master A
JC Virüs Master B
JC Virüs Internal kontrol
JC Virüs Kantitasyon standardı 1 (1×10^4 IU/µl)
JC Virüs Kantitasyon standardı 2 (1×10^3 IU/µl)
JC Virüs Kantitasyon standardı 3 (1×10^2 IU/µl)
JC Virüs Kantitasyon standardı4 (1×10 IU/µl)
Su (PZR'ye uygun)

Kullanılacak olan kit -20°C de muhafaza edilmiştir. İşlem öncesinde gerekli malzemeler oda sıcaklığında çözöndürölmüştür. Çözöldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılmıştır. Her hasta için 15 µl master A ve 5 µl master B

solüsyonundan oluşan karışım hazırlanır. Hazırlanmış olan bu karışımdan 20 µl amplifikasyon tüplerine alınmış ve üzerine 10 µl hasta izolatından ilave edilmiştir. JCV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PZR döngü protokolüne göre çalışılmıştır.

Tablo 11’de CMV, EBV, HSV-1/2 ve BK virüs PZR protokolü tablo 12’de JC virüs PZR protokolü belirtilmiştir.

Tablo 11. CMV, EBV, HSV-1/2 ve BK virüs PZR Protokolü

Program	Derece	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95 °C	10 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	45
Bağlanma	65 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	20 saniye	

Tablo 12. JC virüs PZR protokolü

Program	Derece	Süre	Döngü
Ön denatürasyon	95 °C	10 dakika	1
Denatürasyon	95 °C	15 saniye	45
Bağlanma	58 °C	1 dakika	
Uzama	72 °C	20 saniye	

3.5. Sonuçların Görüntülenmesi ve Değerlendirilmesi

PZR işleminin sonuçları aşağıda belirtilmiş dalga boylarına göre belirlenmiş kanallarda değerlendirilmiştir (Tablo 13). PZR eğrileri; pozitif ve negatif kontroller göz önüne alınarak sonuçlar yorumlanmıştır.

Tablo 13. Sonuçların yorumlanmasında kullanılan kanallar ve dalga boyları

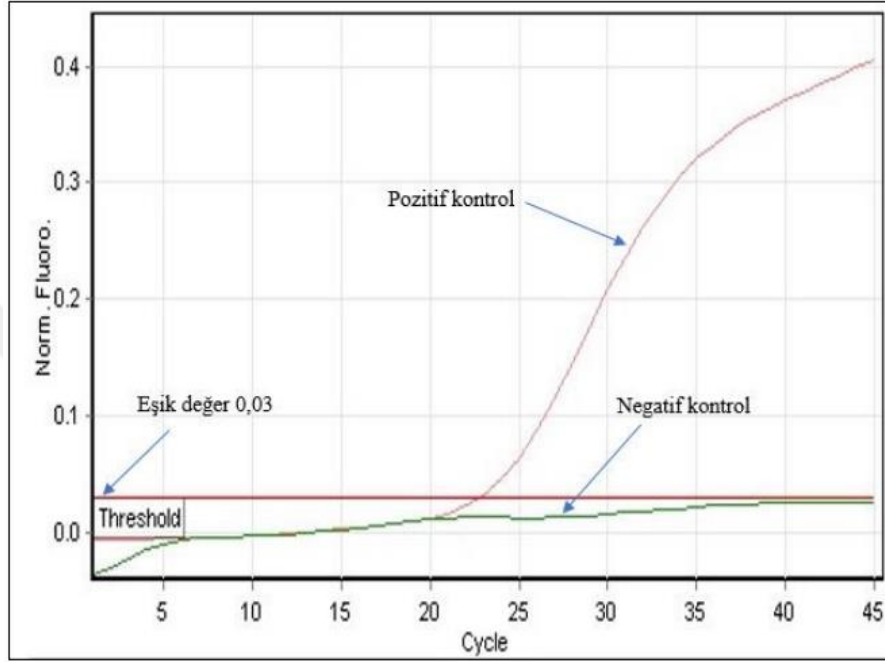
Kanal	Dalga Boyu
Green	470-510 nm
Yellow	530-555 nm
Orange	585-610 nm

CMV, EBV ve JC virüs değerlendirmesinde; Green kanalında bir sinyal algılandığı durumda ‘örnek virüs DNA’sı içeriyor’ şeklinde yorumlanmıştır. Yellow kanalında ise testin internal kontrolünün tespiti ve eş zamanlı olarak kantitatif standartların amplifikasyonu yorumlanmıştır.

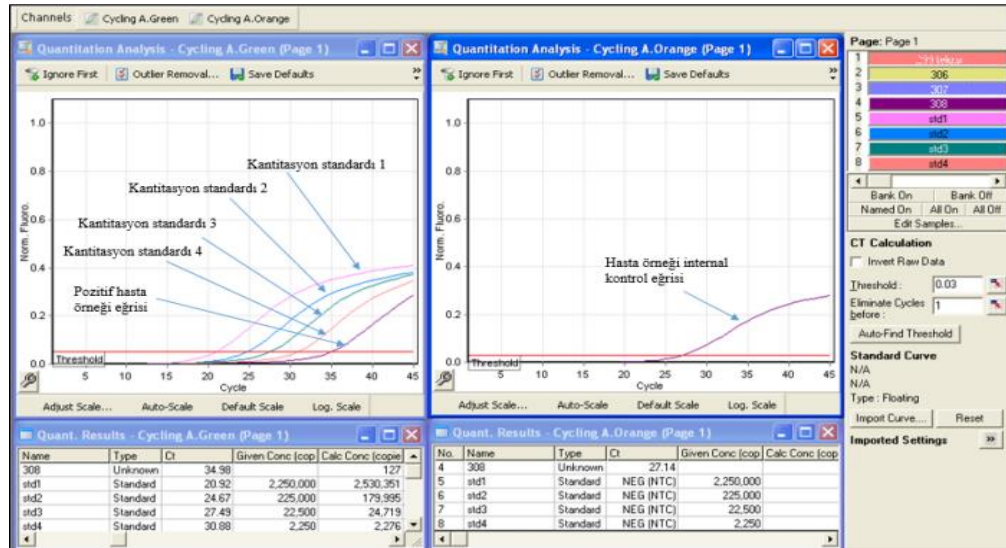
BK virüs değerlendirmesinde; Green kanalında bir sinyal algılandığı durumda ‘örnek virüs DNA’sı içeriyor’ şeklinde yorumlanmıştır. Orange kanalında ise testin internal kontrolünün tespiti ve eş zamanlı olarak kantitatif standartların amplifikasyonu yorumlanmıştır.

HSV-1/2 değerlendirmesinde; Green kanalında bir sinyal algılandığı durumda ‘örnek virüs HSV-1 DNA’sı içeriyor’ şeklinde yorumlanmış, Orange kanalında bir sinyal algılandığı durumda ise ‘örnek virüs HSV-2 DNA’sı içeriyor’ şeklinde yorumlanmıştır. Yellow kanalında ise testin internal kontrolünün tespiti ve eş zamanlı olarak pozitif ve negatif kontrolün amplifikasyonu yorumlanmıştır.

Tüm testlerde, kitin belirlediği kantitasyon standartları kullanılarak standart bir eğri oluşturulup, viral yük tayini gerçekleştirilmiştir (Şekil 17).



Şekil 16. Pozitif ve negatif kontrol eğrileri



Şekil 17. Kantitasyon standartları ve pozitif hasta sonucu eğrisi

3.6. Hastane Bilgi Sisteminden Veri Analizi

Erişkin Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde 1 Temmuz 2018 ile 30 Haziran 2022 tarihleri arasında HKHN yapılan ve takip edilen hastalara ilişkin veriler hastane otomatizasyon sisteminden (NUCLEUS) elde edilmiştir. Hastaların HSV-1/2, EBV, CMV, BKV ve JCV PZR sonuçları incelenmiştir. Hastaların yaş ve cinsiyet bilgileri, tanıyı aldıkları tarih, eşlik eden kronik hastalık (komorbidite), altta yatan hematolojik hastalık, tanı tarihi, nakil tarihi, nakil tipi, nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimi türü ve HLA uyumlarına sistemde kayıtlı verilerden ulaşılmıştır.

Etik kurul izni: Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 21.11.2022 tarihli toplantısında 858 sayılı karar numarası ile izin alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.7. İstatiksel Analiz

Araştırmanın verileri, SPSS v.23 istatistik programı ile değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı özellikleri incelemek amacıyla yüzde dağılımları alınmış, sürekli değişkenlerin merkezi eğilim ve yaygınlık ölçütleri (ortalama, standart sapma, ortanca) hesaplanmıştır. İleri analizlerde istatistiksel anlamlılık değeri %95 güven aralığında $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare testi (Pearson testi ve Fisher'in Kesin testi) kullanılmıştır. Ki-kare testi sonrası farkın hangi grup/gruplardan kaynaklandığını ortaya koymak için ikili karşılaştırmalar yapılmış ve Tip 1 (alfa) hatayı önlemek için Bonferroni düzeltmesi yapılarak grup sayısına bağlı olarak yeni p değerine göre anlamlılık incelenmiştir.

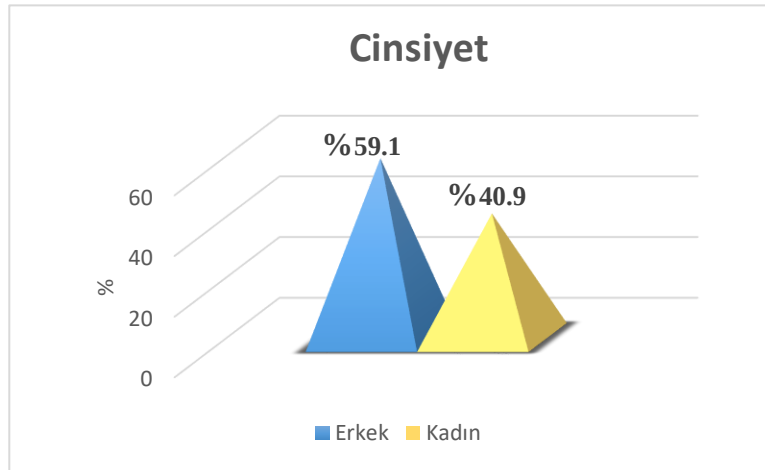
4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubu

Retrospektif olarak yapılan çalışmada, 18 yaşından büyük ve 75 yaşından küçük, allojenik ve otolog kök hücre nakli yapılmış toplam 350 hematoloji hastası çalışmaya dahil edilmiştir. 18 yaşından küçük ve 75 yaşından büyük allojenik ve otolog kök hücre nakli yapılmış hematoloji hastaları ile 18 yaşından büyük ve 75 yaşından küçük, allojenik ve otolog kök hücre nakli yapılmamış hematoloji hastaları çalışmaya dahil edilmemiştir.

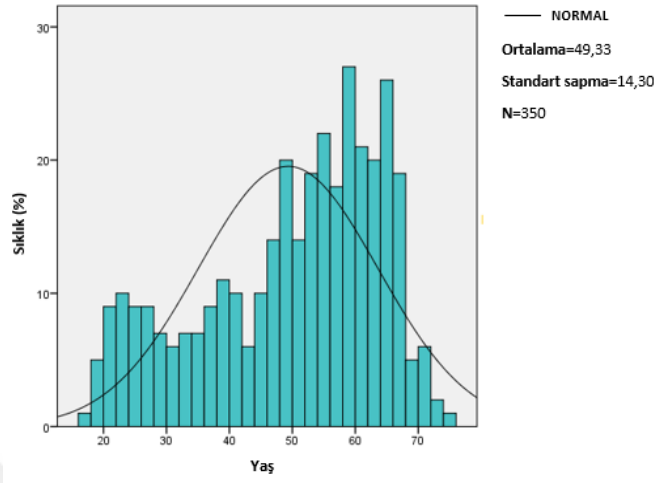
4.1.1. Kök hücre nakli yapılan hastalara ait tanımlayıcı özellikler

Çalışmaya dahil edilen hastaların %59,1'i (n=207) erkek, %40,9'u (n=143) kadın hastalardan oluşmaktadır (Şekil 18).



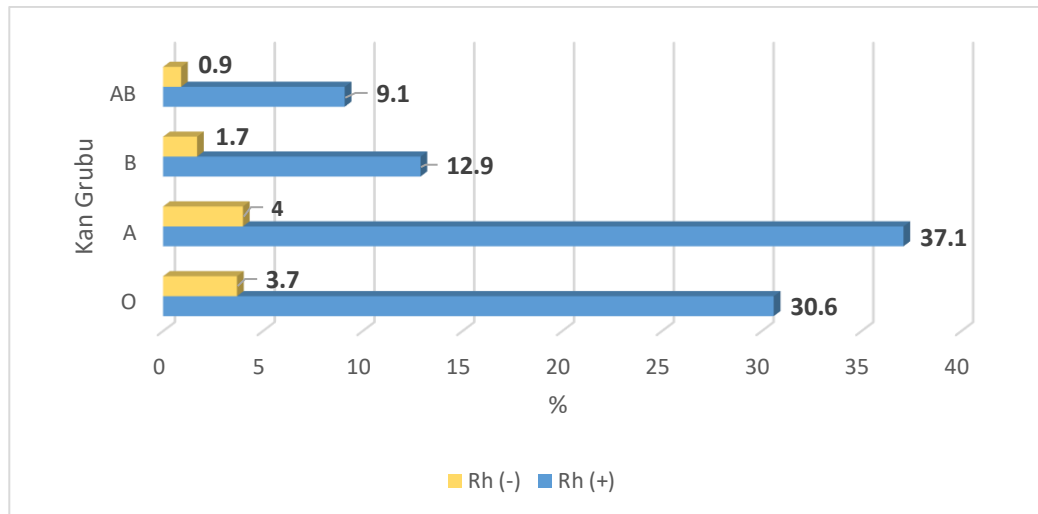
Şekil 18. Araştırmaya dahil edilen hastaların cinsiyete göre dağılımı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması $49,33 \pm 14,30$ yıl olarak belirlenmiştir. Şekil 19'da hastaların yaş dağılımı gösterilmiştir.



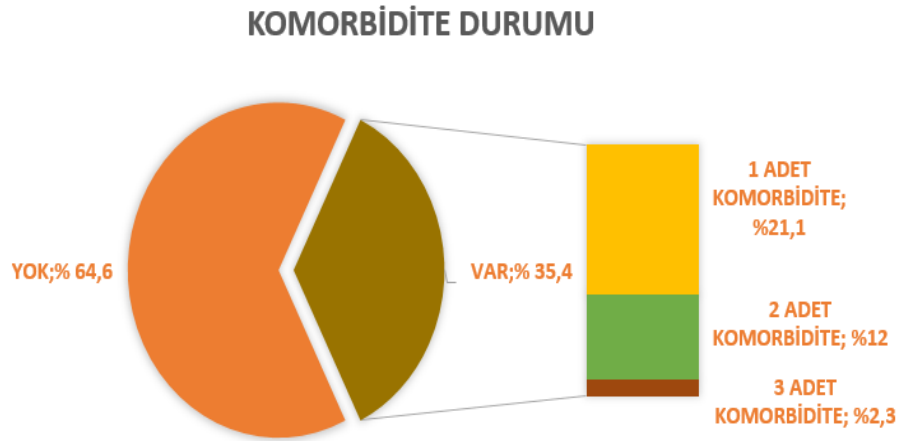
Şekil 19. Araştırmaya dahil edilen hastaların yaşa göre dağılımı

Hastalarda en sık %37,1 (n=130) ile A Rh (+) kan grubu tespit edilirken, %0,9 (n=3) ile AB Rh (-) kan grubu en az sıklıkta görülmüştür. Hastalarda diğer kan gruplarının dağılımı sırasıyla; 0 Rh (+) %30,6 (n=130), B Rh (+) %12,9 (n=45), AB Rh (+) %9,1 (n=32), A Rh (-) %4,0 (n=14), 0 Rh (-) %3,7 (n=13) ve B Rh (-) %1,7 (n=6) olarak tespit edilmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Araştırmaya dahil edilen hastaların kan gruplarına göre dağılımı (%)

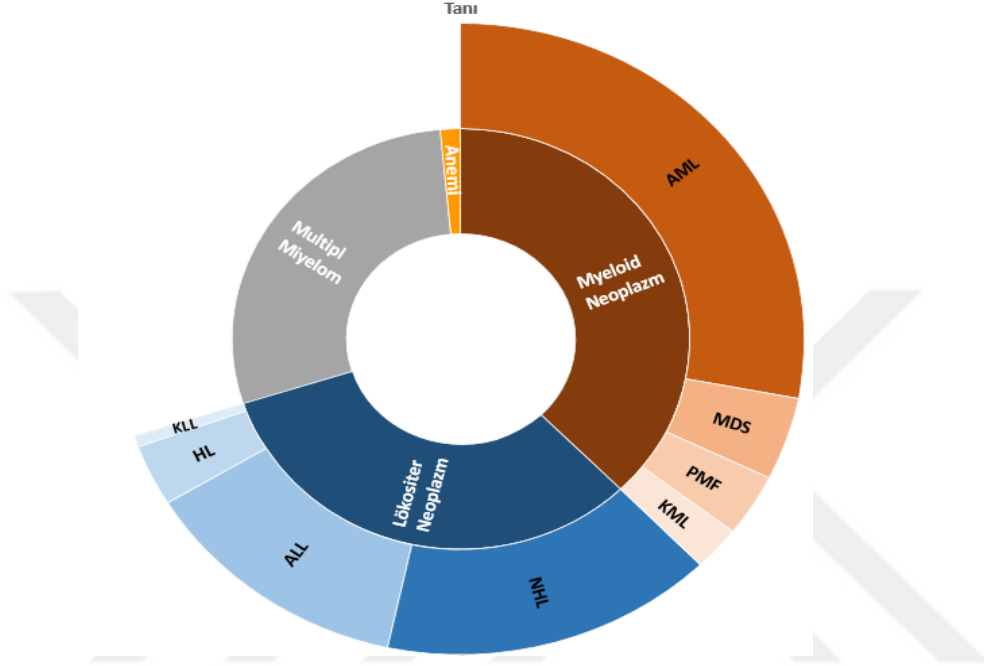
Kök hücre nakli yapılan hastaların komorbidite durumları incelendiğinde; %64,6'sında (n=226) herhangi bir ek hastalık bulunmazken, %35,4'ünde (n=124) ek hastalık varlığı belirlenmiştir. Hastaların %21,1'inde (n=74) tek bir komorbid hastalık, %12'sinde (n=42) iki farklı komorbid hastalık ve %2,3'ünde (n=8) üç farklı komorbid hastalık bulunduğu belirlenmiştir. Komorbid hastalık olarak; hipertansiyon, diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, kronik böbrek yetmezliği, kronik obstruktif akciğer hastalığı, pulmoner tromboemboli ve serebrovasküler olay varlığı tespit edilmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Araştırmaya dahil edilen hastaların komorbidite durumuna göre dağılımı.

Çalışmaya dahil edilen hastaların kök hücre nakli yapılmadan önceki klinik tanıları incelendiğinde; %32,3'ünde (n= 113) Lökositler neoplazm tanısı (ALL, KLL, HL ve NHL); % 37,7'sinde (n=132) Myeloid neoplazm tanısı (AML, MDS, KML ve PMF) bulunurken %28,6'sında (n=100) MM ve %1,4'ünde ise (n=5) anemi tanısı tespit edilmiştir. Lökositler neoplazm tanısı alan hastalarda en sık

görülen tablo NHL %15,7 (n=132) iken, myeloid noplazm tanısı alanlarda en sık AML tablosu %28 (n=98) bulunmaktadır (Şekil 22).



Şekil 22. Araştırmaya dahil edilen hastaların almış oldukları tanıya göre dağılımı.

Çalışmaya dahil edilen kök hücre nakli yapılan hastaların cinsiyet, yaş, kan grubu, komorbid hastalık, tanı özelliklerine göre sosyodemografik özellikleri ve tıbbi özgeçmişine ait bilgiler tablo 14 ve tablo 15’te verilmiştir.

Tablo 14. Hastaların bazı sosyodemografik özellikleri ve tıbbi özgeçmişi

Özellik (n=350)	n	%
Cinsiyet		
Kadın	143	40,9
Erkek	207	59,1
Yaş		
Ortalama±standart sapma= 49,33±14,30 Ortanca=53,00		
Kan grubu		
0 Rh (+)	107	30,6
0 Rh (-)	13	3,7
A Rh (+)	130	37,1
A Rh (-)	14	4,0
B Rh (+)	45	12,9
B Rh (-)	6	1,7
AB Rh (+)	32	9,1
AB Rh (-)	3	0,9
Komorbid hastalık durumu		
Yok	226	64,6
Var	124	35,4
Komorbid hastalık sayısı		
Bir komorbid hastalık	74	21,1
İki komorbid hastalık	42	12
Üç komorbid hastalık	8	2,3

Tablo 15. Hastaların altta yatan hematolojik hastalık tanısına göre dağılımı

Tanı	n	%
Lökositler neoplazm		
ALL	45	12,9
KLL	2	0,6
HL	11	3,1
NHL	55	15,7
Myeloid neoplazm		
AML	98	28
MDS	15	4,3
KML	8	2,3
PMF	11	3,1
MM	100	28,6
Anemi	5	1,4

4.1.2. Hasta grubuna uygulanan kök hücre nakline ait özellikler

Çalışmaya dahil edilen hastaların %58,9'una (n=206) allojenik kök hücre nakli (AHKHN), %41,1'ine (n=144) otolog kök hücre nakli (OHKHN) yapılmıştır. Allojenik kök hücre nakli yapılan 206 hastanın %74,8'ine (n=154) akraba, %25,2'sine (n=52) ise akraba dışı donörden yapılan kök hücre nakli uygulanmıştır. En sık görülen donör tipi %56,8 (n=117) ile 10/10 HLA uyumlu akraba olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla %15,6 (n=32) ile haploidentik donör (kısmi HLA uyumlu donör), %13,6 (n=28) ile 10/10 HLA uyumlu akraba dışı donör, %11,6 (n=24) ile 9/10 HLA uyumlu akraba dışı donör ve %2,4 (n=5) ile en az 9/10 HLA uyumlu akraba donörden yapılan kök hücre nakilleri takip etmiştir. Hastalara nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimleri incelendiğinde %57,4'üne (n=201) myeloablatif tedavi uygulanırken, %42,6'sına (n=149) non-myeloablatif rejimlerinin uygulandığı belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalara uygulanan kök hücre nakline ait nakil türleri, donör tipi, HLA uyumu, uygulanan hazırlık rejimine ilişkin özellikler tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16. Çalışmaya dahil edilen hastalara uygulanan kök hücre nakiline ait nakil türleri, donörün tipi, HLA uyumu, uygulanan hazırlık rejimine ilişkin özellikler

Özellik	n	%
Nakil Türü (n=350)		
AHKHN	206	58,9
OHKHN	144	41,1
Donör Tipi ve HLA Uyumu (n=206)		
Akraba	154	74,8
Haploidentik	32	15,6
9/10	5	2,4
10/10	117	56,8
Akraba dışı	52	25,2
9/10	24	11,6
10/10	28	13,6
Hazırlık Rejimi (n=350)		
Myeloablative	201	57,4
Non-myeloablative	149	42,6

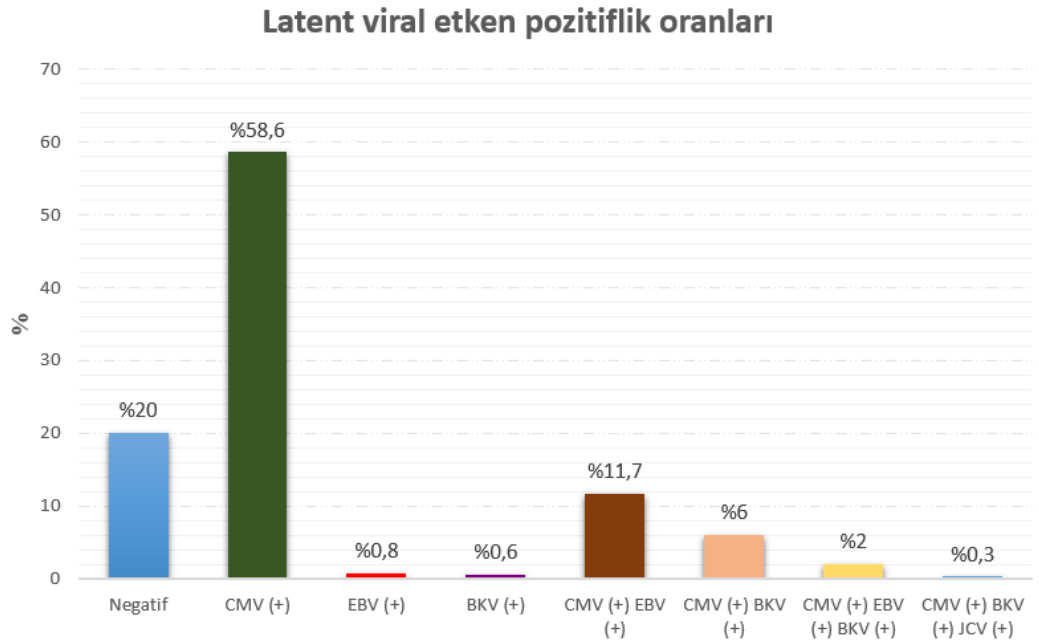
4.2. Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Nakil Sonrası Gelişen Enfeksiyonlar

4.2.1. Hastalarda nakil sonrası görülen latent viral enfeksiyonlar

Çalışmamızda, kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sonrası gelişen latent viral enfeksiyon etkenlerinden CMV, HSV, EBV, BKV ve JCV varlığı incelenmiştir. Kök hücre nakli yapılan hastaların %20'sinde (n=70) herhangi bir latent viral enfeksiyon etkeni tespit edilmemiştir. Hastaların %80'inde (n=280) ise 1 veya daha fazla sayıda latent viral enfeksiyon etkeni varlığı belirlenmiştir. Buna göre, kök hücre nakli yapılan hastaların %60'ında (n=210) nakil sonrası tek bir latent viral enfeksiyon etkeni tespit edilirken, %20'sinde (n=70) nakil sonrası 2 veya üzeri latent viral enfeksiyon etkeni belirlenmiştir.

Kök hücre nakli yapılan 350 hastanın nakil sonrası takibinde en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin CMV olduğu belirlenmiştir. Nakil sonrası 350 hastanın %58,6'sında (n=205) tek başına CMV pozitifliği, %0,8'inde (n=3) sadece EBV, %0,6'sında (n=2) ise sadece BKV pozitifliği tespit edilmiştir.

Birden fazla viral etken tespit edilen 70 hasta incelendiğinde %11,7'sinde (n=41) CMV ve EBV birlikteliği, %6'sında (n=21) CMV ve BKV pozitifliği, %2'sinde (n=7) CMV, EBV ve BKV pozitifliği, %0,3'ünde (n=1) ise CMV, BKV ve JCV'nin bir arada pozitif olarak bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 23). Buna göre, toplam CMV pozitifliği %78,5 (n=275), toplam EBV pozitifliği %14,5 (n=51), toplam BKV pozitifliği %8,8 (n=31) ve toplam JCV pozitifliği %0,3 (n=1) oranında tespit edilmiştir. Hastaların hiçbirinde latent viral enfeksiyon etkenlerinden HSV-1/2 pozitifliği tespit edilmemiştir.



Şekil 23. Kök hücre nakli sonrası gelişen latent viral enfeksiyon etkenlerinin pozitiflik durumları

Latent viral enfeksiyon etkenlerinin nakil türüne göre dağılımları incelendiğinde; AHKHN yapılan hastalarda nakil sonrası en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin CMV olduğu belirlenmiştir. AKHN yapılan 206 hastanın

%49'unda (n=101) tek başına CMV pozitifliği, %1,5'inde (n=3) sadece EBV, %0,5'inde (n=1) ise sadece BKV pozitifliği tespit edilmiştir. Hastaların %17,4'ünde (n=36) CMV ve EBV pozitifliği, %8,7'sinde (n=18) CMV ve BKV'nin bir arada bulunduğu, %3,5'inde (n=7) CMV, EBV ve BKV birlikteliği, %0,5'inde (n=1) ise CMV, BKV ve JCV pozitifliği belirlenmiştir. Buna göre AHKHN yapılan hastalarda toplam CMV pozitifliği %79,1 (n=163), toplam EBV pozitifliği %22,3 (n=46), toplam BKV pozitifliği %13,1 (n=27) ve toplam JCV pozitifliği %0,5 (n=1) olarak tespit edilmiştir.

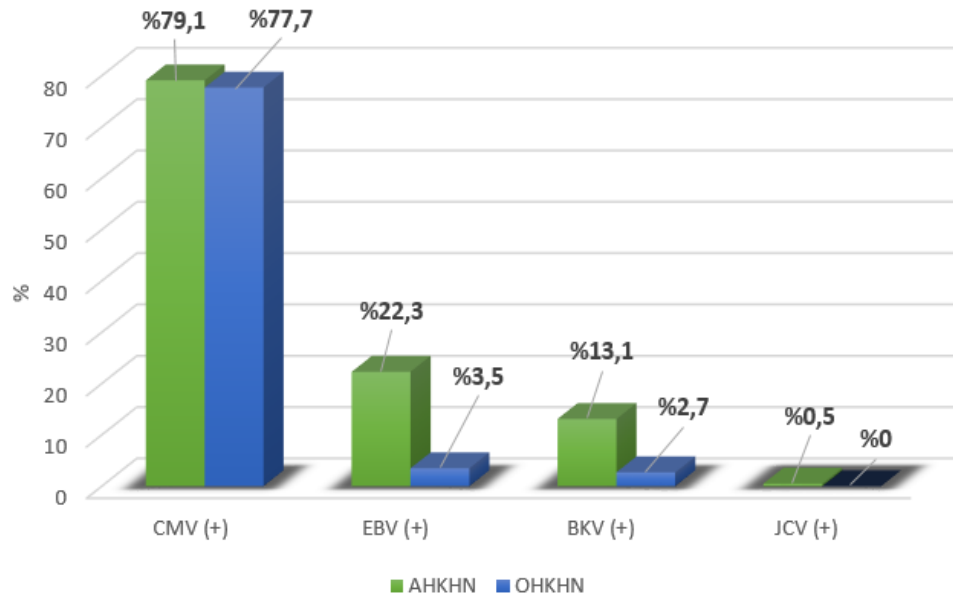
OHKHN yapılan hastalarda da nakil sonrası en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin AHKHN yapılan hastalara benzer şekilde CMV olduğu belirlenmiştir. OKHN uygulanan 144 hastanın %72,2'sinde (n=104) tek başına CMV pozitifliği, %0,7'sinde (n=1) ise sadece BKV pozitifliği belirlenmiştir. Hastaların %3,5'inde (n=5) CMV ve EBV birlikteliği, %2'sinde (n=3) ise CMV ve BKV pozitifliği belirlenmiştir. Buna göre OHKHN yapılan hastalarda toplam CMV pozitifliği %77,7 (n=112), toplam EBV pozitifliği %3,5 (n= 5) ve toplam BKV pozitifliği %2,7 (n=4) olarak tespit edilmiştir.

Kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sonrası gelişen latent viral enfeksiyonların nakil türlerine ait özellikler tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 17. Kök hücre nakli sonrası gelişen latent viral enfeksiyon etkenlerinin nakil türlerine göre pozitiflik durumu

Latent viral enfeksiyon etkenleri	AKHN yapılan hastalar (n=206)		OKHN yapılan hastalar (n=144)		Toplam (n=350)	
	n	%	n	%	n	%
Negatif	39	18,9	31	21,6	70	20
Sadece CMV (+)	101	49	104	72,2	205	58,6
Sadece EBV (+)	3	1,5	-	-	3	0,8
Sadece BKV (+)	1	0,5	1	0,7	2	0,6
CMV (+) EBV (+)	36	17,4	5	3,5	41	11,7
CMV (+) BKV (+)	18	8,7	3	2	21	6
CMV (+) BKV (+) EBV (+)	7	3,5	-	-	7	2
CMV (+) BKV (+) JCV (+)	1	0,5	-	-	1	0,3

Toplam EBV ve BKV pozitifliği açısından nakil türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,012$, $p=0,017$). Nakil türüne göre latent viral enfeksiyon etkenlerinin pozitiflik oranları şekil 24’de verilmiştir.

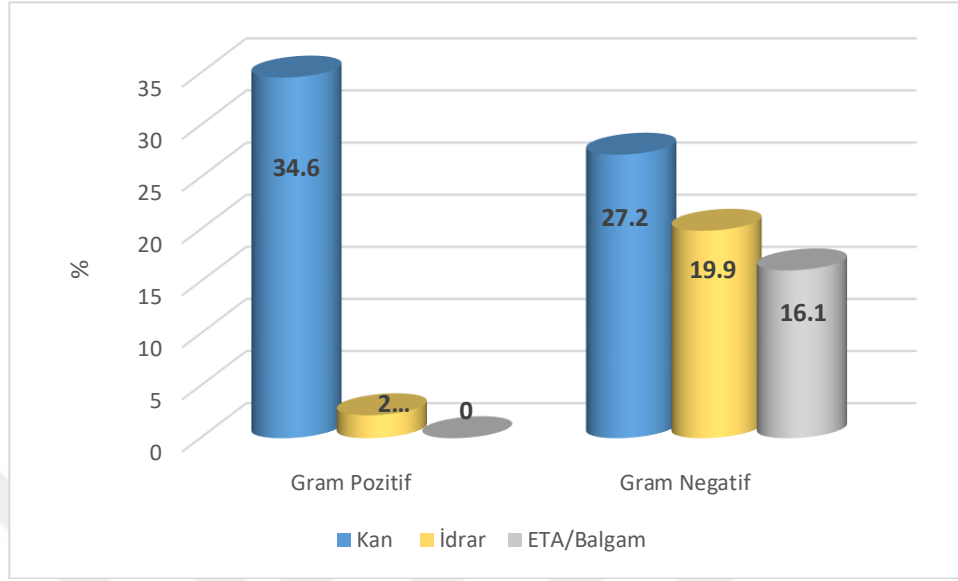


Şekil 24. Nakil türlerine göre latent virüs enfeksiyon etkenlerinin oranları

4.2.2. Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği görülen hastalarda bakteri ve mantar enfeksiyonu görülme sıklığı

Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği saptanan hastalara ait klinik örneklerde bakteri ve mantar üreme durumu incelendiğinde, hasta örneklerinin %48,6'sında (n=136) bakteri, %1,4'ünde (n=4) ise mantar üremesi tespit edilmiştir.

Bakteri kültürü pozitif olan 136 hasta örneklerinin %36,8'inde (n=50) gram pozitif, %63,2'sinde ise (n=86) gram negatif bakteri üremesi belirlenmiştir. Hasta klinik örneklerine göre üreyen bakteriler incelendiğinde; kan kültüründe üreme tespit edilen hastaların %34,6'sında (n=47) gram pozitif, %27,2'sinde (n=37) gram negatif bakteri; idrar kültüründe üreme tespit edilen hastaların %2,2'sinde (n=3) gram pozitif, %19,9'unda (n=27) ise gram negatif bakteri üremesi tespit edilmiştir. ETA/balgam kültüründe üreme tespit edilen hastalarda gram pozitif bakteri üremesi gözlenmezken, %16,1'inde (n=27) gram negatif bakteri üremesi saptanmıştır. Klinik örnek türüne göre üreyen bakteri türleri şekil 25'de gösterilmiştir.



Şekil 25. Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği olan hastalarda klinik örneklerle göre üreyen bakteri türü

Kültürde mantar üremesi görülen 4 hastaya ait klinik örnekte etkenin maya mantarı olduğu tespit edilmiştir. Hastalarda kültürde üreyen bakteri ve mantar türleri ve klinik örneklerle göre dağılımı tablo 18’de belirtilmiştir.

Tablo 18. Nakil sonrası latent viral enfeksiyon pozitifliği olan hastalarda bakteri ve mantar üreme durumu

Enfeksiyon etkeni (n=280)*	n	%
Bakteri		
Üreme yok	144	51,4
Üreme var	136	48,6
Kan		
Gram pozitif	47	34,6
Gram negatif	37	27,2
İdrar		
Gram pozitif	3	2,2
Gram negatif	27	19,9
ETA/Balgam		
Gram negatif	22	16,1
Mantar		
Üreme yok	276	98,6
Üreme var	4	1,4
Maya	4	100,0
Küf	-	-

* Latent viral enfeksiyon pozitifliği olan hastalarda değerlendirilmiştir.

4.2.3. Kök hücre nakli yapılan hastalarda görülen latent viral enfeksiyon etkenlerinin nakil sonrası pozitifleşme zamanı

Kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sonrası gelişen latent viral enfeksiyonlara neden olan etkenlerin nakil sonrası pozitifleşme zamanları tablo 18’de verilmiştir. Kök hücre nakli olan hastalarda en sık görülen latent viral etken olan CMV (n=275), medyan 21.günde (2-720) saptanmıştır. CMV, hastaların %58,5’inde (n=161) naklin 30. gününden önce pozitifleşirken, %22,2’sinde (n=61) 30-90 gün arasında, %19,3’ünde (n=53) ise naklin 90. gününden sonra pozitifleştiği belirlenmiştir. EBV ise medyan 140. günde (18-1050) belirlenmiş olup pozitif olarak tespit edilen toplam 51 hastanın %2’sinde (n=1) nakil sonrası 30. günden önce, %23,5 ‘inde (n=12) 30-90 gün arasında, %74,5’inde (n=38) ise 90. günden sonra EBV pozitifliği tespit edilmiştir. Nakil sonrası BKV pozitifliği medyan 98. günde (13-625) saptanmış olup, pozitiflik belirlenen 31 hastanın ise %12,9’unda (n=4) kök hücre nakli sonrası 30. günden önce, %29’unda (n=9) 30-90 gün arasında, %58,1’inde (n=38) ise 90. günden sonra BKV pozitif olarak belirlenmiştir. Nakil sonrası JCV pozitif olarak tespit edilen 1 hastada JCV pozitifliğinin 90. günden sonra tespit edildiği belirlenmiştir (Tablo 19).

Tablo 19. İLatent viral enfeksiyon etkenlerine göre pozitifleşme zamanları

Latent viral enfeksiyon etkenlerinin pozitifleşme zamanı (gün) *	n	%
CMV (n=275)		
<30	161	58,5
30-90	61	22,2
>90	53	19,3
EBV (n=51)		
<30	1	2,0
30-90	12	23,5
>90	38	74,5
BKV (n=31)		
<30	4	12,9
30-90	9	29,0
>90	18	58,1
JCV (n=1)		
<30	-	-
30-90	-	-
>90	1	100,0

* HSV pozitifliği gözlenmemiştir.

4.3. Allojenik Kök Hücre Nakli ve Otolog Kök Hücre Nakli Yapılan Hastaların Karşılaştırmalı Özellikleri (AHKHN, OHKHN)

4.3.1. AHKHN ve OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken pozitif ve negatifliği ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması

Çalışmamızda AHKHN ve OHKHN yapılan hastalarda tek bir latent viral etken pozitifliği ile negatif hastalara ait özellikler karşılaştırılmıştır. Latent viral enfeksiyon etkenleri arasında en sık CMV görüldüğü için karşılaştırmalarda CMV pozitifliği temel alınmıştır. Bu hastaların sonuçları latent viral enfeksiyon saptanmayan hasta sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Tek başına EBV, BKV ve JCV pozitif hasta sayısının az olmasından dolayı EBV, BKV ve JCV virüse ait karşılaştırmalı istatistiksel analiz yapılamamıştır.

4.3.1.1. AHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif ve negatifliği ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması

AHKHN yapılan ve CMV pozitif bulunan hastaların %39,6'sı (n=40) kadın, 60,4'ü (n=61) erkek iken; CMV negatif hastaların %28,2'si (n=11) kadın, %71,8'i (n=28) erkek hasta olarak belirlenmiş ve iki grup arasında cinsiyet açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,209). AHKHN yapılan CMV pozitif ve CMV negatif hastalar arasında yaş açısından anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p=0,112). AHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif grupta komorbid hastalık varlığı %26,7 (n=27) iken, negatif grupta %15,4 (n=6) olarak belirlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,156). CMV pozitif ve negatif hastaların en sık myeloid neoplazm tanısı aldığı belirlenmiş ve tanı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,411). Nakil öncesi hazırlık rejimi olarak non-myeloablatif tedavi uygulanmış AHKHN'li hasta grubunda CMV pozitifliği negatifliğine göre daha fazla görülmüş olsa da (sırasıyla %74,3 ve %59,0), yapılan hazırlık rejimi ile CMV pozitifliği arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,077). AHKHN yapılan hastalarda akraba veya akraba dışı donör varlığı ile CMV pozitifliği arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,466). HLA uyumunda haploidentik grupta CMV pozitifliği negatifliğine göre daha yüksek olarak gözlenmiş (sırasıyla %18,8 ve %7,7), ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,202).

Allojenik kök hücre nakli yapılan hastalarda CMV pozitiflik/negatiflik durumu ile sosyodemografik özellikleri, tanıları, nakil öncesi uygulanan hazırlık

rejimleri, donör tipi ve HLA uyumuna ilişkin olarak yapılan karşılaştırmalar tablo 20’de verilmiştir.

Tablo 20. AHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif/ negatiflik durumu ile hasta özelliklerinin karşılaştırılması

Özellik (n=140)	AHKHN Yapılan Hastalarda CMV pozitif/negatiflik durumu					
	CMV (+) (n=101)		CMV (-) (n=39)		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Cinsiyet						
Kadın	40	39,6	11	28,2	51	36,4
Erkek	61	60,4	28	71,8	89	63,6
Yaş						
50 yaş altı	55	54,5	27	69,2	82	58,6
50 yaş ve üzeri	46	45,5	12	30,8	58	41,4
Komorbid hastalık Durumu						
Yok	74	73,3	33	84,6	107	76,4
Var	27	26,7	6	15,4	33	23,6
Tanı Grubu						
Lökositler	33	32,7	12	30,8	45	32,1
Neoplazm						
Myeloid	60	59,4	23	59,0	83	59,3
Neoplazm						
Multipl Myelom	6	5,9	1	2,6	7	5,0
Anemi	2	2,0	3	7,7	5	3,6
Hazırlık Rejimi						
Non-myeloablative	75	74,3	23	59,0	98	70,0
Myeloablative	26	25,7	16	41,0	42	30,0
Donör Tipi						
Akraba	74	73,3	31	79,5	105	75,0
Akraba Dışı	27	26,7	8	20,5	35	25,0
HLA Uyumu						
Haploidentik	19	18,8	3	7,7	22	15,7
9/10	16	15,8	5	12,8	21	15,0
10/10	66	65,3	31	79,5	97	69,3

HLA: İnsan lökosit antijeni

4.3.1.2. OHKHN yapılan hastalarda CMV pozitiflik ve negatifliği ile tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması

OHKHN yapılan ve CMV pozitif bulunan hastaların %44,2'si (n=46) kadın, %55,8'i (n=58) erkek iken; CMV negatif hastaların %48,4'ü (n=15) kadın, %51,6'sı (n=16) erkek hasta olarak belirlenmiş ve iki grup arasında cinsiyet açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p= 0,683). CMV pozitif ve negatif hastalar arasında yaş açısından anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p=0,928). OHKHN nakli yapılan hastalarda CMV pozitif grupta komorbid hastalık varlığı %51 (n=53); negatif grupta %48,4 (n=15) olarak belirlenmiş ve gruplar arasında komorbid hastalık varlığı açısından istatistiksel bir fark gözlenmemiştir (p=0,801). CMV pozitif ve negatif gruplarda en sık gözlenen tanı multipl miyelom olarak belirlenmiş ve tanı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0,405). OHKHN yapılan CMV pozitif ve negatif bulunan hastaların neredeyse tamamına nakil öncesi hazırlık rejimi olarak myeloablatif tedavi uygulanmış olup (sırasıyla %98,1; %96,8) yapılan hazırlık rejimi ile CMV varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p=0,546).

Otolog kök hücre nakli yapılan hastalarda CMV pozitiflik/negatiflik durumu ile sosyodemografik özellikleri, tanıları, nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimleri, donör tipi ve HLA uyumuna ilişkin olarak yapılan karşılaştırmalar tablo 21'de verilmiştir.

Tablo 21. OHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif/ negatiflik durumu ile hasta özelliklerinin karşılaştırılması

Özellik (n=135)	OHKHN Yapılan Hastalarda CMV pozitif/negatiflik durumu						
	CMV (+) (n=104)		CMV (-) (n=31)		Toplam		p değeri
	n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet							0,683
Kadın	46	44,2	15	48,4	61	45,2	
Erkek	58	55,8	16	51,6	74	54,8	
Yaş							0,928
50 yaş altı	26	25,0	8	25,8	34	25,2	
50 yaş ve üzeri	78	75,0	23	74,2	101	74,8	
Komorbid hastalık Durumu							0,801
Yok	51	49,0	16	51,6	67	49,6	
Var	53	51,0	15	48,4	68	50,4	
Tanı Grubu							0,405
Lökositler Neoplazm	36	34,6	10	32,3	46	34,1	
Myeloid Neoplazm	2	1,9	2	6,5	4	3,0	
Multipl Myelom	66	63,5	19	61,3	85	63,0	
Hazırlık Rejimi							0,546
Non-myeloablative	2	1,9	1	3,2	3	2,2	
Myeloablative	102	98,1	30	96,8	132	97,8	

4.3.2. AHKHN ve OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken

sayısı ile hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması

4.3.2.1. AHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken sayısı ile

hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması

AHKHN yapılan hastalar arasında tek virüs pozitifliği bulunanların %40'ı (n=42), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %41,9'u (n=26) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %28,2'si (n=11) kadın olup, hastaların viral etken sayıları ile cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,340). AHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %42,9'u (n=45), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların

%48,4'ü (n=30) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %30,8'i (n=12) 50 yaş ve üzeri olup, hastaların viral etken sayıları ile yaş dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,216).

AHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %26,7'sinin (n=28), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %29,0'unun (n=18) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %15,4'ünün (n=6) komorbid hastalığı olduğu belirlenmiştir. Hastaların viral etken sayıları ile komorbid hastalığa sahip olma durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,273).

AHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %32,4'ünün (n=34), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %25,8'inin (n=16) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %30,8'inin (n=12) lökositler neoplazm tanısı olduğu belirlenmiştir. Hastaların viral etken sayıları ile tanıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p=0,356).

AHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %27,6'sına (n=29), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %24,2'sine (n=15) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %41,0'ine (n=16) nakil öncesi myeloablatif hazırlık rejimi uygulanmıştır. Hastaların viral etken sayıları ile uygulanan hazırlık rejimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,172).

AHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %74,3'ünün (n=78), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %72,6'sının (n=45) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %79,5'inin (n=31) donörünün akraba olduğu tespit edilmiştir. Hastaların viral etken sayıları ile donör tipi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p=0,730).

AHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %66,7'si (n=70), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %71,0'ı (n=44) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %79,5'i (n=31) 10/10 HLA uyumuna sahip olduğu görülmüştür. Hastaların viral etken sayıları ile HLA uyumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,579).

Allojenik kök hücre nakli yapılan hastaların latent viral enfeksiyon etken sayısına göre bazı sosyodemografik ve hastalığa ait özelliklerinin karşılaştırılması tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22. AHKHN yapılan hastaların latent viral enfeksiyon etken sayıları ile sosyodemografik ve hastalığa ait özelliklerinin karşılaştırılması

Özellik	AHKHN								p
	Tek virüs pozitifliği		İki veya daha fazla virüs pozitifliği		Virüs negatif		Toplam		
	(n=105)		(n=62)		(n=39)		(n=206)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Cinsiyet									0,340
Kadın	42	40,0	26	41,9	11	28,2	79	38,3	
Erkek	63	60,0	36	58,1	28	71,8	127	61,7	
Yaş									0,216
50 yaş altı	60	57,1	32	51,6	27	69,2	119	57,8	
50 ve üzeri	45	42,9	30	48,4	12	30,8	87	42,2	
Komorbid hastalık Durumu									0,273
Yok	77	73,3	44	71,0	33	84,6	154	74,8	
Var	28	26,7	18	29,0	6	15,4	52	25,2	
Tanı Grubu									0,356
Lökositler	34	32,4	16	25,8	12	30,8	62	30,1	
Neoplazm									
Myeloid	63	60,0	42	67,7	23	59,0	128	62,1	
Neoplazm									
Multipl	6	5,7	4	6,5	1	2,6	11	5,3	
Miyelom									
Anemi	2	1,9	-	-	3	7,7	5	2,4	
Hazırlık Rejimi									0,172
Non-myeloablatif	76	72,4	47	75,8	23	59,0	146	70,9	
Myeloablatif	29	27,6	15	24,2	16	41,0	60	29,1	
Donör Tipi									0,730
Akraba	78	74,3	45	72,6	31	79,5	154	74,8	
Akraba Dışı	27	25,7	17	27,4	8	20,5	52	25,2	
HLA Uyumu									0,579
Haploidentik	19	18,1	10	16,1	3	7,7	32	15,5	
9/10	16	15,2	8	12,9	5	12,8	29	14,1	
10/10	70	66,7	44	71,0	31	79,5	145	70,4	

*Değerlendirilen latent viral enfeksiyon etkenleri: CMV, EBV, BKV, JCV ve HSV'dir.

4.3.2.2. OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon etken sayısı ile

hasta tanımlayıcı özelliklerinin karşılaştırılması

OHKHN yapılan hastalar arasında tek virüs pozitifliği bulunanların %44,8'i (n=47), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %25,0'i (n=2) ve latent

virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %48,4'ü (n=15) kadın olup, hastaların viral etken sayıları ile cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,551).

OHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %72,4'ü (n=76), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %100'ü (n=8) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %74,2'si (n=23) 50 yaş ve üzeri olup, hastaların viral etken sayıları ile yaş dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,226).

OHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %50,5'inin (n=53), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %50'sinin (n=4) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %48,4'ünün (n=15) komorbid hastalığı olduğu belirlenmiştir. Hastaların viral etken sayıları ile komorbid hastalığa sahip olma durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,998).

OHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %34,3'ünün (n=36), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %62,5'inin (n=5) ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %32,3'ünün (n=10) lökositler neoplazm tanısı olduğu tespit edilmiştir. hastaların viral etken sayıları ile tanı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,288).

OHKHN yapılan hastalarda tek virüs pozitifliği bulunanların %98,1'ine (n=103), iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanların %100'üne (n=8) ve latent

virüs pozitifliği belirlenmeyenlerin %96,8'ine (n=30) nakil öncesi myeloablatif hazırlık rejimi uygulanmıştır. Hastaların viral etken sayıları ile uygulanan hazırlık rejimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (p=0,615).

Otolog kök hücre nakli yapılan hastaların latent viral enfeksiyon etken sayısına göre sosyodemografik ve hastalığa ait özelliklerinin karşılaştırılması tablo 23'de verilmiştir.

Tablo 23. OHKHN yapılan hastaların latent viral enfeksiyon etken sayıları ile sosyodemografik ve hastalığa ait özelliklerinin karşılaştırılması

Özellik	OHKHN							p
	Tek virüs Pozitifliği (n=105)		İki veya daha fazla virüs pozitifliği (n=8)		Virüs negatif (n=31)		Toplam (n=144)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Cinsiyet								
Kadın	47	44,8	2	25,0	15	48,4	64	44,4
Erkek	58	55,2	6	75,0	16	51,6	80	55,6
Yaş								
50 yaş altı	29	27,6	-	-	8	25,8	37	25,7
50 yaş ve üzeri	76	72,4	8	100,0	23	74,2	107	74,3
Komorbid hastalık Durumu								
Yok	52	49,5	4	50,0	16	51,6	72	50,0
Var	53	50,5	4	50,0	15	48,4	72	50,0
Tanı Grubu								
Lökositler	36	34,3	5	62,5	10	32,3	51	35,4
Neoplazm								
Myeloid	2	1,9	-	-	2	6,5	4	2,8
Neoplazm								
Multipl Miyelom	67	63,8	3	37,5	19	61,3	89	61,8
Hazırlık Rejimi								
Non-myeloablatif	2	1,9	-	-	1	3,2	3	2,1
Myeloablatif	103	98,1	8	100,0	30	96,8	141	97,9

*Değerlendirilen latent viral enfeksiyon etkenleri: CMV, EBV, BKV, JCV ve HSV'dir.

5. TARTIŞMA

Hematopoietik kök hücre nakli; maligniteler, hematolojik hastalıklar, immün yetmezlikler ve metabolik hastalıklar dahil olmak üzere konjenital veya edinsel bozukluklarda tam iyileşme sağlayabilen ve son yıllarda kullanım endikasyonları giderek artan önemli bir tedavi yöntemidir. Kök hücre nakil hastalarında yüksek morbidite ve mortalite ile birlikte olan viral enfeksiyonlar ve komplikasyonlar erken tanı ve doğru tedavi seçeneklerinin zamanında uygulanması ile engellenebilmektedir. Özellikle latent viral enfeksiyonlar, immünsüpressif tedavi altındaki hastalarda reaktifte olabilmektedir. Çalışmamızda, 2018- 2022 yılları arasında otolog ve allojenik HKHN yapılan 350 hastada, latent viral enfeksiyonların sıklığı ve bu durumu etkileyen risk faktörleri retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ile resmi ilişkisi olan EBMT ile CIBMTR kök hücre nakli, bağış ve hücresele tedavide en iyi sonuçların alınmasını amaçlayan bilimsel kuruluşlardır. Uluslararası Kan ve İlik Nakli Araştırma Merkezi (CIBMTR)'nin 550 merkez ve 56 ülkeden toplanan verilerine göre 2018 yılına kadar 254.663'ten fazla otolog HKHN, 251.053 allojenik HKHN olgusu bildirilmiştir. Yetişkinler arasında (>18 yaş) 2018 yılında OHKHN yapılan hasta sayısı 14173 iken, AHKHN uygulanan hasta sayısı 7543 olarak tespit edilmiştir. 2018 yılındaki 7543 AHKHN uygulanan olgunun %42'sinde AML, %23'ünde MDS/MPN ve %15'inde ALL endikasyonu ile AHKHN yapılmıştır. Otolog HKHN

uygulanan yetişkinler arasında, %67 ile multipl miyelom ve %24 ile hodgkin dışı lenfoma nakil endikasyonları arasında en üst sırada tespit edilmiştir (142).

Avrupa Kan ve Kemik İliği Nakil Birliği (EBMT)'nin 50 ülke ve 701 merkezdeki verileri baz alarak yaptığı çalışmada, 19.630 allojenik HKHN ve 27.838 otolog HKHN olgusu bildirilmiştir (143). Nakil endikasyonları incelendiğinde; AHKHN uygulanan olgular arasında %38 ile en sık AML saptanmıştır. Diğer nakil endikasyonları ise %16 ALL, %13 MDS, %7 NHL ve %2 HL olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da AHKHN yapılan hastalarda Avrupa Kan ve Kemik İliği Nakil Birliği'nin verileri ile paralel olarak en sık %45,6 ile AML, %21,4 ile ALL, %7,3 ile MDS, %5,8 ile NHL ve %1,9 ile HL olguları saptanmıştır. EBMT'nin verilerinde; OHKHN yapılan hastaların nakil endikasyonları incelendiğinde %54 ile en sık MM saptanmış olup, bunu %27 ile NHL, %9 ile HL takip etmektedir (143). Çalışmamızda, benzer şekilde OHKHN yapılan hastaların %61,8'inde MM, %29,9'unda NHL ve %4,9'unda HL tanısının bulunduğu belirlenmiştir.

EBMT'nin geniş çaplı yaptığı bir çalışmada 48.512 hastanın verileri retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Çok merkezli yapılan bu çalışmada hastalara uygulanan nakil türleri incelendiğinde; %59 hastaya AHKHN ve %41 hastaya OHKHN uygulandığı saptanmıştır (143). Çalışmamıza dahil edilen 350 hastanın verileri incelendiğinde; 206 hastaya allojenik (%58,9), 144 hastaya ise otolog (%41,1) nakil uygulandığı belirlenmiştir.

CIBMTR verilerine göre, Amerika’da verici tipindeki en önemli değişiklik zaman içerisinde haploidentik akraba vericilerden yapılan nakillerdeki artıştır. Amerika’da 2015’den beri HLA uyumlu nakillerin sayısında hafif bir düşüş gözlenmekle birlikte akraba dışı vericiden yapılan nakiller 2017 ve 2018 yılları arasında artış göstermiştir (142). EBMT verilerine göre, 19.630 allojenik nakil yapılan olguların 9.914’ü akraba dışı vericiden (%50,5), 6.204’ü HLA tam uyumlu kardeş vericiden (%31,6), 3183’ü haploidentik vericiden (%16,2), 300’ü diğer aile üyelerinden (%1,5) ve 29’u singeneik vericiden (%0,14) yapılmıştır (143). EBMT verilerine göre, en sık verici tipi akraba dışı verici olmasına karşın bizim çalışmamızda en sık verici tipini HLA tam uyumlu akraba oluşturmaktadır.

George ve ark.’nın 315 AHKHN uygulanan hasta üzerinde yaptığı bir çalışmada, donör tipi incelendiğinde %63,3’ünde uyumlu akraba vericiden, %36,7’sinde ise uyumlu akraba dışı vericiden nakil yapıldığı belirtilmiştir (144). Manjappa ve ark.’nın yaptığı başka bir çalışmada, donör tipinin uyumlu akraba vericiden %41, uyumlu akraba dışı vericiden %59 olduğu bildirilmiştir (145). Worel ve ark.’nın yaptığı 20 yıllık bir çalışmanın verilerinde, AHKHN yapılan hastaların donör tipi ve HLA uyumu incelendiğinde, tam uyumlu akraba donör %77,8 ile en üst sırada yer almaktadır. 9/10 uyumlu akraba donör %0,6; tam uyumlu akraba dışı donör %14,6; 9/10 akraba dışı donör %4,2 ve tek yumurta ikizler %2,6 olarak tespit edilmiştir (146). Amerika’da Macmillan ve ark.’nın 1723 AHKHN yapılan hastanın verilerini dahil ettiği başka bir çalışmada, donör tipi ve HLA uyumu incelendiğinde en üst sırada diğer çalışmalardaki gibi %35 ile tam

uyumlu akraba donör yer almakla birlikte ikinci sırada %4 ile tam uyumlu akraba dışı donör olduğu tespit edilmiştir (147).

Bizim çalışmamızda, allojenik kök hücre nakli yapılan 206 hastanın %74,8'ine akraba, %25,2'sine ise akraba dışı donörden yapılan kök hücre nakli uygulanmıştır. Yapılan çalışmalara benzer şekilde HLA 10/10 uyumlu akraba donör %56,8 ile ilk sırada yer almaktadır. Buna göre sırasıyla haploidentik nakil %15,6; 10/10 HLA uyumlu akraba dışı donör %13,6; 9/10 HLA uyumlu akraba dışı donör %11,6 ve 9/10 HLA uyumlu akraba donör ise %2,4 ile en az tercih edilen donör tipi olarak tespit edilmiştir.

Cohen ve ark.'nın yaptığı 5 yılı kapsayan bir çalışmada hastalara nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimleri incelendiğinde, %67'sine myeloablatif rejim ve %33'üne ise non-myeloablatif rejim uygulandığı tespit edilmiştir (148). Bizim çalışmamızda analiz edilen 350 hastanın nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimleri incelendiğinde diğer çalışmalarla benzer şekilde %57,4'üne (n=201) myeloablatif, %42,6'sına (n=149) ise non-myeloablatif rejimlerinin uygulandığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda, kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sonrası gelişen latent viral enfeksiyon etkenlerinden CMV, HSV 1-2, EBV, BKV ve JCV varlığı incelenmiştir. Buna göre, kök hücre nakli yapılan hastaların %60'ında (n=210) nakil sonrası tek bir latent viral enfeksiyon geliştiği, %20'sinde (n=70) nakil sonrası 2 ve üzeri latent viral enfeksiyon geliştiği ve %20'sinde (n=70) ise latent viral enfeksiyon görülmediği tespit edilmiştir. Kök hücre nakli yapılan hastalarda nakil sonrası en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin CMV olduğu

belirlenmiştir. Çoklu viral enfeksiyonlar, kök hücre nakli sonrası immünsüpresyonla bağlantılı olarak hastaların önemli bir kısmında görülmektedir. Pek çok literatür nakil sonrası viral enfeksiyonlardaki risk faktörleri, tedavisi ve sonuçlarına odaklansa da, klinik uygulamalarda birden fazla virüsün aynı anda veya sırayla yeniden aktive olabileceği görülmektedir. Nakil sonrası latent virüs pozitifliği incelendiğinde iki latent viral etken pozitifliği için %24-35,6 ve en az üç latent viral etken pozitifliği için %5,5-28 arasında insidans bildirilmiştir. Hangi hastaların çoklu viral enfeksiyon için risk altında olduğu veya reaktivasyonun immünsüpresyonun bir belirtici mi yoksa viral-viral etkileşimin bir sonucu mu olduğu belirsizdir (149).

Qamruddin ve ark.'nın yapmış olduğu 2 yıllık retrospektif çalışmada, AHKHN sonrası CMV pozitifliğini %34 olarak saptanmıştır (150). Kang ve ark.'nın 292 AHKHN yapılan hastayı dahil ederek yaptıkları çalışmada, CMV pozitifliği %47,6 olarak tespit edilmiştir (151). Ghaffari ve ark.'nın 43 AHKHN yapılan hastadan nakil sonrası 100. güne kadar haftalık elde edilen 415 periferik kan örneğinde gerçek zamanlı PZR yöntemi ile CMV DNA varlığını araştırdığı başka bir çalışmada, hastaların %51'inde CMV pozitifliği belirlenmiştir (152). Einsele ve ark.'nın yapmış olduğu başka bir çalışmada AHKHN sonrası CMV pozitifliği %66 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada seçilen hasta grubunun CMV seropozitif nakil alıcıları veya CMV seropozitif donörden nakil alan hematoloji hastaları olması nedeniyle CMV pozitifliğinin diğer çalışmalara göre daha yüksek olarak tespit edildiği belirtilmiştir (153). Yaptığımız çalışmada, AHKHN yapılan hastalarda nakil sonrası en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin CMV

olduğu belirlenmiştir. AHKHN uygulanan 260 hastanın %49’unda (n=101) tek başına CMV pozitifliği , %30 unda (n=62) ise diğer latent viral etkenlerle birlikte CMV pozitifliği saptanmış olup toplamda %79,1 oranında CMV pozitifliği tespit edilmiştir. Diğer çalışmalara kıyasla daha yüksek bir pozitiflik oranı belirlememizin alta yatan nedeninin, nakil sonrası hastalarda semptom olsun veya olmasın haftalık en az 2 kez rutin CMV PZR testinin yapılmasından dolayı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca CMV pozitifliği açısından önemli bir risk faktörü olan verici seropozitiflik durumu bilinmediğinden, CMV pozitiflik oranının beklenenden yüksek çıkmasının, verici seropozitiflik oranının yüksekliğinden kaynaklanabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

OHKHN yapılan hastalarda latent viral enfeksiyon sıklığı incelendiğinde; çalışmamızda OHKHN yapılan hastalarda da nakil sonrası en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin AHKHN uygulanan hastalara benzer şekilde CMV olduğu belirlenmiştir. Mengarelli ve ark.’nın 2016 yılında OHKHN yapılan hastalar üzerinde yaptığı prospektif sürveyans çalışmasında, CMV reaktivasyonu %30-40 oranında tespit edilmiştir (154-157). OHKHN yapılan 324 lenfoma ve myelom hastasında, nakil sonrası hastaneden taburcu olana kadar haftalık CMV izlemi ve hastaneden taburcu olduktan sonra klinik semptomu dayalı olarak yapılan CMV PZR çalışmasında, nakil sonrası CMV reaktivasyon oranı %16 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada reaktivasyon oranının düşük bulunmasının seçilen hasta grubuna ait tanılara bağlı olabileceği düşünülmüştür (158). Bizim çalışmamızda OHKHN uygulanan 144 hastanın %72,2’sinde (n=104) tek başına CMV pozitifliği, %3,5’inde (n=5) CMV ve EBV birlikteliği, %2’sinde (n=3) ise

CMV ve BKV pozitifliği belirlenmiştir. Buna göre OHKHN yapılan hastalarda toplam CMV pozitifliği %77,7 (n=112) olarak belirlenmiştir. Diğer çalışmalara kıyasla bizim çalışmamızda CMV pozitifliği daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu durumun hastalara genel olarak uygulanan tedavi protokolündeki farklılıktan kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda allojenik HKHN yapılan grupta CMV pozitiflik oranlarının otolog HKHN grubuna göre daha yüksek saptanmasının nedeninin, AHKHN yapılan hastalara daha yoğun olarak immünsüpresif tedavi uygulama zorunluğunun bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Wingard ve ark.'nın çalışmasında, enfeksiyon riskinin, T ve B hücre immün rekonstitüsyonun daha hızlı olduğu otolog nakillerde daha düşük, nötropeni süresinin uzun olduğu allojenik nakillerde ise daha yüksek olduğu belirtilmiştir (31).

Ru ve ark.'nın AHKHN yapılan 890 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, %19,6 hastada EBV pozitifliği saptanmıştır (159). Wang ve ark.'nın AHKHN uygulanan 186 hastada yaptıkları çalışmada, %18,8'inde EBV pozitifliği saptanmıştır (160). CMV ve EBV'nin birlikte reaktivasyonunun, her bir virüsün tek başına reaktivasyonuna kıyasla daha ciddi bir klinik duruma işaret edebileceği düşünülmektedir. Nakil sonrası CMV ve EBV reaktivasyonu araştıran birçok çalışma bulunmasına rağmen, CMV ve EBV'nin birlikte reaktivasyonunu araştıran az sayıda çalışma vardır. Peric ve ark.'nın Fransa'da 175 AHKHN uygulanan hastanın verileri dahil edilerek yaptığı 4 yıllık bir çalışmada EBV reaktivasyonu incelenmiştir. AHKHN yapılan 175 hastanın %19,4'ünde (n=34) EBV pozitifliği saptandığı bildirilmiştir. EBV pozitifliği saptanan 34 hastanın 5'inde aynı zamanda CMV pozitifliği de belirlenmiştir. Hastaların tümü incelendiğinde %16,6'sında

sadece EBV pozitifliği, %2,8'sinde ise hem CMV hem EBV pozitifliği olduğu bildirilmiştir (161). Song ve ark.'nın 330 AHKHN yapılan hastayı inceledikleri retrospektif çalışmada; hastaların %34,2'sinde sadece CMV pozitifliği, %24,8'inde sadece EBV pozitifliği ve %9,7'sinde ise CMV ve EBV ko-reaktivasyonu belirlenmiştir (162). Li ve ark.'nın 2022 yılında yaptığı bir çalışmada, 327 AHKHN yapılan hasta retrospektif olarak incelenmiş, hastaların %47,1'inde sadece CMV pozitifliği, %3,3'ünde sadece EBV pozitifliği ve %22,9'unda ise CMV ve EBV ko-reaktivasyonu belirlenmiştir (163). Çalışmamızda, AHKHN uygulanan hastaların %1,5'inde (n=3) sadece EBV pozitifliği, %17,4'ünde (n=36) CMV ve EBV pozitifliği, %3,5'inde (n=7) CMV, EBV ve BKV birlikteliği saptanmıştır. Buna göre, EBV pozitifliği AHKHN uygulanan tüm hastaların 46'sında tespit edilmiş olup %22,3 ile diğer çalışma ile benzerlik göstermiştir. Çalışmamızda nakil sonrası CMV pozitif olan hastalarda EBV pozitifliğinin tek başına EBV pozitifliğine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuca göre nakil sonrası CMV pozitifliğinin EBV enfeksiyonu için bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür.

Marjanska ve ark.'nın yaptığı çalışmada OHKHN sonrası EBV pozitifliği %1 olarak belirtilmiştir (164). Bizim çalışmamızda OHKHN sonrası tek başına EBV pozitifliği tespit edilmezken, hastaların %3,5'inde (n=5) CMV ve EBV'nin birlikte pozitif olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda AHKHN uygulanan hastalarda toplam EBV pozitifliği oranı (%22,3), OHKHN uygulanan hastalardaki toplam EBV pozitifliği oranından (%3,5) yüksek bulunmuştur. Bu durum, AHKHN yapılan hastalarda GVHH'nin oluşmasını engellemek için uygulanan profilaktik steroid kullanımının enfeksiyon riskini arttırdığını düşündürmektedir.

Literatürde kök hücre nakli uygulanan hastalarda BKV insidansı %2-66 arasında bildirilmektedir (165). Roriye ve ark. tarafından yapılan geniş çaplı, 491 hastanın verilerinin retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada, BKV pozitifliği saptanma oranı %10,4 olarak belirtilmiştir (166). Gilis ve ark.'nın 323 hastanın verileri dahil edilerek retrospektif olarak yaptığı başka bir çalışmada, BKV pozitifliği %13,3 olarak saptanmıştır (167). Zhou ve ark.'ı 2023 yılında, 11 çalışma ve 2556 AHKHN yapılan hastayı dahil ederek, BKV risk faktörlerini araştıran bir meta analiz yayınlamışlardır. Bu meta analizde, AHKHN yapılan hastalarda CMV reaktivasyonu BKV pozitifliği açısından potansiyel risk faktörü olarak belirlenmiştir (168). Çalışmamızda, tek başına BKV pozitifliğinin %0,5 (n=1), CMV ve BKV birlikteliğinin %8,7 (n=18), CMV, EBV ve BKV birlikteliğinin %3,5 (n=7) ve CMV, BKV ve JCV birlikte pozitifliğinin %0,5 (n=1) olduğu tespit edilmiştir. Buna göre AHKHN yapılan hastalarda toplam BKV pozitifliği % 13,1 (n=27) olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer bir oran tespit edilmiş olup, ek olarak BKV pozitifliğinin çoğunun CMV pozitifliği ile birlikte olduğu saptanmıştır.

Hong Kong'da Leung ve ark.'nın yaptığı prospektif bir çalışmada, OHKHN yapılan hastalarda BKV pozitifliği incelenmiş ve oran %36,4 olarak tespit edilmiştir (169). Bizim çalışmamızda ise OHKHN yapılan hastaların %0,7'sinde (n=1) sadece BKV pozitifliği, %2'sinde (n=3) CMV ve BKV pozitifliği belirlenmiştir. Buna göre OHKHN yapılan hastalarda toplam BKV pozitifliği %2,7 (n=4) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda literatür ile benzer şekilde AHKHN uygulanan hastalarda

toplam BKV pozitifliği oranı (%13,1), OHKHN uygulanan hastalardaki toplam BKV pozitifliği oranından (%2,7) yüksek bulunmuştur.

Wittman ve ark.'nın 164 AHKHN yapılan hastanın verilerinin dahil edildiği çalışmada, JCV pozitifliği %14,4 olarak saptanmıştır (170). Hu ve ark.'nın 38 HKHN uygulanan hastayı dahil ederek yaptıkları çalışmada, polyomavirüs görülme sıklığı ve risk faktörleri incelenmiştir. Bu çalışmada, BKV pozitifliği %21, JCV pozitifliği %42 olarak belirlenmiştir. Ek olarak CMV pozitifliği JCV için bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir (171). Bizim çalışmamızda ise AHKHN uygulanan hastaların sadece bir tanesinde (%0,5) JCV pozitifliği belirlenmiştir.

Hematopoietik kök hücre nakli uygulanan hastalar sıklıkla bakteri ve mantar enfeksiyonları açısından hedef haline gelmektedir. Çin'de Zeng ve ark.'nın 376 allojenik, 370 otolog HKHN uygulanan hastanın dahil edildiği çalışmada kan kültür pozitifliği %8,8 olarak saptanmıştır (172). En sık görülen türlerin Gram-negatif bakteriler (%33,3-81,3) ve en sık izole edilen suşun *Escherichia coli* (%33,3) olduğu belirlenmiştir. Literatürde HKHN'li hastalarda bakteriyemi insidansının %13 ile %41 arasında değiştiği bildirilmektedir (172, 173). Song ve ark.'nın 3054 HKHN yapılan hastanın dahil edildiği çalışmada, bakteriyemi varlığının %5,5 oranında olduğu belirlenmiştir (174). Öksüz ve ark.'nın 91 HKHN yapılan hastayı dahil ettiği çalışmada, CMV pozitifliği %52,6; bakteriyemi sıklığı %60 ve fungal enfeksiyon sıklığı ise %8,8 olarak saptanmıştır. Hastaların %18,7'sinde CMV pozitifliği ile bakteriyemi, %5,5'inde ise CMV pozitifliği ile fungal enfeksiyonlar birlikte tespit edilmiştir. Çalışmada, HKHN yapılan hastalarda 158 mikroorganizma saptanmış olup, bunların %47,5'i kan, %11,4'ü idrar yolu ve

%9,5'i alt solunum yolu örneklerinde tespit edilmiştir. Hastaların %71,2'sinde gram pozitif bakteri üremesi olduğu bildirilmiştir. Gram pozitif bakterilerin %29'u kan, %6,1'i idrar ve %3,7'si solunum yolu örneklerinde ve gram negatif bakterilerin %13,1'i kan, %5'i idrar ve %5'i solunum yolu örneklerinde tespit edilmiştir. HKHN yapılan hastalarda görülen fungal enfeksiyonlarının tamamında maya mantarları tanımlanmıştır (175). Çalışmamızda herhangi bir latent virüs pozitifliği saptanan 280 hastadaki bakteri ve mantar enfeksiyonları incelendiğinde; %48,6 (n=136) oranında bakteri üremesi, %1,4 (n=4) oranında mantar üremesi olduğu belirlenmiştir. Bakteri üremesi saptanan mikroorganizmaların %36,8'i (n=50) gram pozitif; %63,2'si (n=86) gram negatif bakteri olarak saptanmıştır. Örnek türüne göre incelendiğinde; kan kültüründe üreme tespit edilen hastaların %34,6'sında (n=47) gram pozitif, %27,2'sinde (n=37) gram negatif bakteri üremesi; idrar kültüründe üreme tespit edilen hastaların %2,2'sinde (n=3) gram pozitif, %19,9'unda (n=27) gram negatif bakteri üremesi; ETA/balgam kültüründe üreme tespit edilen hastaların %16,1'inde (n=27) gram negatif bakteri üremesi saptanmıştır. Mantar üremesi saptanan 4 hastanın tamamında maya mantarı tespit edilmiştir.

Al-Rawi ve ark.'nın 210 otolog HKHN uygulanan hastada yaptığı çalışmada, CMV pozitifliği medyan 31. günde (21-54); George ve ark.'nın 315 allojenik HKHN uygulanan hastada yaptığı çalışmada medyan 50. Günde (10-65), Rossini ve ark.'nın 136 otolog HKHN yapılan hastayı dahil ettikleri çalışmalarında ise medyan 32. günde (7-57) CMV pozitifliği saptanmıştır (144, 176, 177). Ito ve ark.'nın allojenik HKHN yapılan 110 hastada CMV pozitifliği medyan 37. günde

(7-62) , Sousa ve ark.'nın allojenik HKHN uygulanmış 305 hastayı dahil ettikleri çalışmalarında CMV pozitifliği medyan 29. günde (0-1285) tespit edilmiştir (8, 178). Bizim çalışmamızda diğer çalışmalarla benzer olarak CMV pozitifliği medyan 21. günde (2-720) saptanmıştır. Ayrıca günlere göre CMV pozitifliği incelendiğinde, hastaların %58,5'inde (n=161) nakil sonrası 30. günden önce, %22,2'sinde (n=61) 30-90 gün arasında, %19,3'ünde (n=53) ise 90. günden sonra pozitifleşme tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki nakil sonrası takiplerde CMV PZR'nin pozitifleşme süresi literatür ile benzer şekilde saptanmıştır.

Zallio ve ark.'ı allojenik kök hücre nakli yapılan hastalarda EBV pozitifliğini medyan 62. günde (4-441) belirlemişlerdir (179). Fan ve ark. hematopoietik kök hücre nakli yapılan hastalarda medyan 45. günde (14-88) EBV pozitifliği tespit etmişlerdir (180). Bizim çalışmamızda medyan 140. günde (18-1050) EBV pozitifliği saptanmıştır. EBV pozitif olarak tespit edilen toplam 51 hastanın %2'sinde (n=1) nakil sonrası 30. günden önce, %23,5 'inde (n=12) 30-90 gün arasında, %74,5'inde (n=38) ise 90. günden sonra EBV'nin pozitifleştiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda nakil sonrası takiplerde, EBV DNA ilk pozitifleşmesine kadar geçen süre, literatüre göre daha uzun olarak saptanmıştır. Bu sonuca göre, kök hücre nakli yapılan hastaların EBV reaktivasyonu açısından daha uzun süre takip edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Roriye ve ark.'nın 491 allojenik kök hücre nakli uygulan hasta dahil edilerek yaptığı kohort çalışmasında, BKV pozitifliği medyan 58. günde (2-663) saptanmıştır (166). Saade ve ark.'ı 409 allojenik kök hücre nakli yapılan hastada BKV pozitifliğini medyan 41. günde (31-55) tespit etmişlerdir (181). Atilla ve

ark.'nın allojenik kök hücre nakli uygulanan hastalarda yaptıkları prospektif çalışmada, BKV pozitifliği medyan 100. günde (0-367) belirlenmiştir. Bu hastaların 30.gün ve 90. gün BKV PZR analizleri sırasıyla %41 ve %12 oranlarında pozitif olarak bulunmuştur (182). Çalışmamızda Atilla ve ark.'nın yaptığı çalışmaya benzer şekilde medyan 98. günde (13-625) BKV pozitifliği tespit edilmiştir. Nakil sonrası BKV enfeksiyonu gözlenen 31 hastanın %12,9'unda (n=4) kök hücre nakli sonrası 30. günden önce, %29'unda (n=9) 30-90 gün arasında, %58,1'inde (n=38) ise 90. günden sonra BKV DNA pozitifliği belirlenmiştir.

Wittman ve ark.'nın, allojenik kök hücre naklini takiben JCV reaktivasyonunu analiz ettikleri çalışmada, medyan 119. günde (7-908) JCV DNA pozitifliği tespit edilmişti (170). Çalışmamızda kök hücre nakli sonrası JCV pozitif olarak tespit edilen bir hastada 90. günden sonra pozitifleşme olduğu tespit edilmiştir.

CMV enfeksiyonu HKHN yapılan hastalar için önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Günümüzde gelişen tanı yöntemleri ve tedavi yaklaşımları ile CMV hastalığı insidansı azalmakla birlikte önemini korumaya devam etmektedir. Bu nedenle HKHN yapılan hastalarda CMV hastalığını önlemek ve buna bağlı mortaliteyi azaltmak için hastaların risk faktörlerinin bilinmesi, CMV reaktivasyonu açısından yakın takibi ve her merkezin kendine ait tedavi stratejisini belirlemesi önemlidir. Literatür incelendiğinde hematopoietik kök hücre nakli olan hastalarda CMV reaktivasyonu açısından risk faktörlerinin belirlenmesi için pek çok çalışma yapıldığı görülmektedir. Lee ve ark.'nın OHKHN yapılan 80 hastayı dahil ederek yaptığı çalışmada, CMV pozitifliği ile cinsiyet arasında istatistiksel

olarak anlamlı fark belirlenmemiştir (183). Manjappa ve ark.'nın 246 AKHN uygulanan hasta ile yapmış oldukları çalışmada, CMV pozitifliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (145). Sousa ve ark.'nın Portekizde 305 AHKHN uygulanan hastayı dahil ederek yaptığı retrospektif çalışmada, CMV pozitifliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (8). Çalışmamızda da literatür ile benzer olarak allojenik ve otolog HKHN yapılan hastalarda cinsiyet ve CMV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0,209$ ve $p=0,683$).

Yaşın CMV pozitifliği ile ilişkisini inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Rossini ve ark.'nın OHKHN yapılan 136 hastanın dahil edildiği çalışmasında, CMV pozitifliği olan ve olmayan grupta yaş açısından anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir (177). Ancak Massoud ve ark.'nın OHKHN yapılan 324 hastanın değerlendirildiği çalışmalarında, 50 yaş üstü olan grupta CMV pozitifliği %24 iken, 50 yaş altı hastalarda %10 olarak saptanmış ve ileri yaş ile CMV pozitifliği riskinde artış arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (158). Amerika'da AHKHN yapılan hastalarının dahil edildiği bir çalışmada, ileri yaşın CMV pozitiflik riskini arttırdığı bildirilmiştir (145). Bunun aksine, Kang ve ark.'nın 292 AHKHN uygulanan hastanın dahil edildiği çalışmalarında, CMV pozitifliğinin yaş ile anlamlı bir ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (151). Çalışmamızda hem allojenik hem de otolog HKHN grubunda yaş ile CMV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olsa da (sırasıyla $p=0,112$ ve $p=0,928$), hem allojenik hem de otolog HKHN uygulanan hastalarda 50 yaş üstü hasta oranı, CMV pozitif hastalarda CMV negatif hastalara göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. İleri

yaşlarda immün sistem aktivasyonundaki azalmanın bunda etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, HKHN planlanan 50 yaş üstü hastaların nakil öncesi seropozitiflik durumunun incelenmesi ve sonrasında da sıkı bir CMV takibi yapılmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

OHKHN uygulanan hastalarda altta yatan hastalık ve CMV pozitifliği arasındaki ilişki üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar olduğu görülmektedir. Marchesi ve ark.'nın OHKHN yapılan 327 hastanın dahil edildiği çalışmalarında, Non-Hodgkin lenfoma tanısının CMV pozitifliği gelişim riskini anlamlı olarak arttırdığı belirlenmiştir (157). Massoud ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada ise MM ve NHL tanılı hastalarda HL tanılı hastalara göre CMV pozitifliği riskinin anlamlı düzeylerde yüksek olduğu saptamıştır (158). Ancak, altta yatan hastalık ile CMV pozitifliği arasındaki ilişki üzerine yapılan birçok çalışmada anlamlı bir fark saptanmadığı bildirilmiştir (144, 177, 184). Bu çalışmalar ile benzer şekilde çalışmamızda da otolog HKHN yapılan hastalarda altta yatan hastalık ve CMV pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p=0,405$).

Allojenik HKHN yapılan hastalarda altta yatan hastalık ve CMV ilişkisi incelendiğinde; Sousa ve ark.'nın allojenik HKHN yapılan hastaları incelediği beş yıllık retrospektif çalışmasında, CMV pozitifliği ile altta yatan hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir (8). Benzer şekilde Cohen ve ark. yapmış olduğu AHKHN sonrası CMV risk faktörlerini inceleyen çalışmada da altta yatan hastalık ile CMV pozitifliği arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (148). Çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak allojenik HKHN yapılan hastalarda altta yatan hastalık ile CMV reaktivasyonu arasında anlamlı bir ilişki

saptanmamıştır ($p=0,411$). Ancak hem allojenik hem otolog HKHN yapılan hastalarda MM tanılı hasta oranının, CMV pozitif grupta CMV negatif gruptakilere görece daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna göre, MM hastalarında nakil öncesi kullanılan yeni anti-miyelom ilaçlara bağlı immünsüpresyonun, CMV pozitifliği açısından yüksek risk oluşturduğu düşünülmektedir. Özellikle bortezomibin ajanının, doğal öldürücü hücre ve CD4+/CD8+ T hücrelerinin sayısı ve işlevini azalttığı ve viral enfeksiyonlara duyarlılığı arttırdığı belirlenmiştir (175, 176).

Marchesi ve ark.'nın yapmış olduğu OHKHN uygulanan 327 hastaya ait retrospektif analizde, nakil öncesi CMV pozitifliği ile uygulanan hazırlık rejimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (157). Çalışmamızda da benzer olarak OHKHN yapılan 135 hastaya uygulanan hazırlık rejimi ile CMV pozitifliği karşılaştırması yapıldığında, myeloablatif rejim uygulanan hastalarda pozitiflik oranı, non-myeloablatif rejim uygulanan hastalara göre daha yüksek olarak bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,546$).

AHKHN yapılan hastalarda nakil öncesi uygulanan hazırlık rejiminin, nakil sonrası CMV pozitifliğine etkisini araştıran çalışmalarda sonuçlar değişkenlik göstermektedir. Cohen ve ark.'nın yaptığı çalışmada; myeloablatif hazırlık rejimi, CMV pozitifliği için bir risk faktörü olarak belirlenmiştir (148). Bunun sebebinin, uygulanan myeloablatif rejiminin donörde oluşturduğu mukozal hasar ve T hücre sayısındaki azalma kaynaklı immünsüpresyon olduğu düşünülmüştür (185). Lin ve arkadaşlarının yaptığı 5 yıllık retrospektif bir çalışmada, allogeneik HKHN hastalarının hazırlık rejimleri ile CMV pozitifliği arasındaki ilişki irdelemiş ve non-

myeloablatif rejim alan HKHN grubunda daha fazla CMV pozitifliği olduğu; ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadığı belirtilmiştir (186) . George ve ark.'nın AHKHN yapılan hastalardaki çalışmasında, non-myeloablatif rejiminin daha yüksek CMV reaktivasyonu riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Yüksek riskin, bu rejimde kullanılan alemtuzumab ajanına bağlı olduğu belirlenmiştir (144). Oh ve ark.'nın AHKHN uygulanan hastalarda yaptıkları çalışmada, CMV pozitifliği açısından myeloablatif ve non-myeloablatif rejim alan gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (187). Çalışmamızda, allojenik HKHN yapılan 140 hastaya uygulanan hazırlık rejimi ile CMV pozitifliği karşılaştırması yapıldığında non-myeloablatif rejim uygulan hastalarda pozitiflik oranı, myeloablatif rejim uygulanan hastalara göre daha yüksek bulunmuş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,07$). Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, uygulanan hazırlık rejiminin CMV pozitifliği üzerine etkisi hakkında kesin bir sonuca varılamamış olup daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Allojenik HKHN yapılan hastalarda donör tipi ve HLA uyumu ile CMV pozitifliği arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Manjappa ve ark.'nın AHKHN uygulanan hastalarda 5 yıllık retrospektif olarak yaptığı çalışmada, donör tipi ile CMV pozitifliği arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Akraba dışı vericide CMV pozitifliği daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (145). Hindistan'da Kumar ve ark.'ı tarafından yapılan başka bir çalışmada, AHKHN yapılan 130 hastanın donör tipi ve HLA uyumunun CMV pozitifliği üzerine etkisi incelenmiş ve akraba dışı tam

uyumlu grupta CMV pozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde yüksek olduğu tespit edilmiştir (188). Amerika’da Marty ve ark.’nın yaptığı çalışmada, 606 AHKHN uygulanan hastanın CMV pozitifliği ile donör tipi ve HLA uyumu arasındaki ilişki incelenmiş ve akraba dışı donörden veya 9/10 HLA uyumu olan vericiden nakil yapılan hastalarda CMV pozitifliği yüksek oranlarda tespit edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (189). Bizim çalışmamızda, 140 AHKHN uygulanan hastanın donör tipi ve HLA uyumu ile CMV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (sırasıyla $p=0,446$ ve $p=0,202$). Çalışmamızda, CMV pozitif hastaların HLA uyumları incelendiğinde, CMV negatiflere göre haploidentik nakil uygulanan hasta oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Haploidentik nakil grubunda CMV pozitifliğine yatkınlık, nakil öncesi uygulanan tedavi rejimine ek olarak, GVHH riskini azaltmak için antitimosit globülin kullanımından kaynaklı olabileceği üzerinde durulmuştur. Ayrıca HLA uyumsuzluğu ile ilişkili immün aktivasyonun CMV reaktivasyonunu bağımsız olarak etkilemesi de mümkündür (190).

Kök hücre nakli yapılan hastalarda birden fazla komorbid hastalığa rastlanmaktadır. Çalışmamızda bu durum ile viral reaktivasyon arasındaki ilişki de incelenmiştir. Kimura ve ark.’ı allojenik kök hücre nakli uygulanan 21.015 hastayı dahil ederek CMV reaktivasyonunu etkileyen risk faktörlerini inceleyen bir çalışma yayınlamışlardır. Bu çalışmada hastalar; iki ve daha az komorbid hastalığa sahip grup ile üç ve üstü komorbid hastalığa sahip grup olarak ikiye ayrılmıştır. CMV reaktivasyonu, üç ve üstü komorbid hastalığı olanlarda %14,5; iki ve altı komorbid hastalığı olanlarda %13,5 olarak tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark

saptanmamıştır (191). Çalışmamızda, AHKHN yapılan hastalarda CMV pozitif grupta komorbidite varlığı %26,7 (n=27), negatif grupta %15,4 (n=6) olarak belirlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p=0,156).

OHKHN uygulanan hastalarda; HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, adenovirüs, BKV, JCV, parvovirüs B19 ve hepatit B virüs (HBV) türünün araştırıldığı prospektif bir çalışmada, hastaların %46'sında bir virüs pozitifliği, %16'sında iki veya daha fazla virüs pozitifliği saptanırken, %38'inde ise virüs pozitifliği belirlenmemiştir (192). Inazawa ve ark.'nın allojenik kök hücre nakli uygulanan 105 hasta üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada, nakil sonrası multipleks PZR ile 13 virüs türü analiz edilmiş; hastaların %55'inde bir virüs pozitifliği, %16'sında iki veya daha fazla virüs pozitifliği belirlenirken, %29'unda ise virüs pozitifliği tespit edilmemiştir (193). Schönberg ve ark.'nın AHKHN uygulanan hastalarda yaptığı prospektif çalışmada, beş latent virüs varlığı incelenmiş ve hastaların %63'ünde en az bir virüs tespit edilmiştir. En sık saptanan virüs türleri ise CMV ve EBV olarak belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda, HLA uyumsuzluğunun viral pozitiflik için risk oluşturduğu tespit edilmiştir (194). Özellikle HLA tiplemesinde birden fazla antijende uyumsuzluk bulunmasının, nakil sonrası viral DNA pozitifliği açısından büyük bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir (194).

Yamada ve ark. AHKHN yapılan 74 hastada multipleks PZR kullanarak HSV1/2, VZV, CMV, EBV, HHV-6/7/8, BKV, adenovirüs, parvovirüs B19 ve HBV saptamayı amaçladığı çalışmada, en az bir virüs pozitif hasta oranı %70 olarak

saptanmış, en sık belirlenen virüs türü ise CMV olarak tespit edilmiştir. En az bir virüs pozitif hastalar ile negatif hastalar arasında yapılan karşılaştırmada yaş, cinsiyet, donör tipi ve HLA uyumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (195). Düver ve ark.'nın pediatrik hastalarda viral reaktivasyonu analiz ettiği çalışmada; HSV, CMV, EBV, VZV, HHV-6 ve adenovirüs varlığı araştırılmış olup %68,2'sinde en az bir virüs pozitifliği saptanmıştır. Pozitifliği etkileyen faktörler incelendiğinde ileri yaş ve HLA uyumsuzluğu bağımsız risk faktörü olarak tespit edilmiştir (196). Rustia ve ark.'nın AHKHN yapılan hastalarda CMV, EBV ve adenovirüsün reaktivasyonunu ve risk faktörlerini incelediği çalışmada, hastaların %41,4'ünde en az bir virüs reaktivasyonu ve %14,3 ünde ise iki veya daha fazla virüs pozitifliği saptanmıştır. Yapılan risk faktörü analizinde; yaş, cinsiyet, hazırlık rejimi ve altta yatan hastalık tanısı ile virüs pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (197).

Çalışmamızda AHKHN ve OHKHN yapılan hastalar kendi aralarında tek virüs pozitifliği, iki veya daha fazla virüs pozitifliği bulunanlar ve latent virüs pozitifliği belirlenmeyenler olarak gruplandırılıp risk faktörleri incelenmiştir. AHKHN uygulanan hastalarda latent viral enfeksiyon etkeni sayısı ile cinsiyet, yaş, komorbid hastalık durumu, tanı grubu, hazırlık rejimi, donör tipi ve HLA uyumu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,340$, $p=0,216$, $p=0,273$, $p=0,356$, $p=0,172$, $p=0,730$, $p=0,579$). Ancak çalışmamızda virüs pozitiflik sayısı arttıkça (negatif, tek virüs pozitif, 2 ve üstü virüs pozitif); kadın cinsiyetin (sırasıyla %28,2, %40, %41,9), 50 yaş üstü hasta sayısının (sırasıyla %30,8, %42,9, %48,4), komorbid hastalık durumunun (sırasıyla

%15,4, %26,7,%29), non-myeloablatif rejim uygulanmasının (sırasıyla %59, %72,4, %75,8) ve akraba dışı donör tipinin arttığı (sırasıyla %20,5, %25,7, %27,4) görülmüştür. Gelecekte daha geniş ve kapsamlı hasta grupları ile yapılacak olan çalışmalarda; kadın cinsiyet, 50 ve üzeri yaş, komorbid hastalık varlığı, non-myeloablatif rejim uygulanması ve akraba dışı donör tipinin latent virüs pozitiflik sayısı üzerinde oluşturduğu etki daha net bir şekilde ortaya konulabilecektir.

OHKHN uygulanan hastalarda cinsiyet, yaş, komorbid hastalık durumu, tanı grubu ve hazırlık rejimi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,551$, $p=0,226$, $p=0,998$, $p=0,288$, $p=0,615$). Gruplar incelendiğinde hastalardaki virüs pozitif etken sayısı arttıkça (negatif, tek virüs pozitif, 2 ve üstü virüs pozitif); erkek cinsiyetin (sırasıyla %51,6, %55,2, %75) ve myeloablatif rejim uygulanmasının arttığı (sırasıyla %96,8, %98,1, %100) görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığından dolayı, yukarıda sayılan risk faktörlerinin latent viral enfeksiyonlar için yatkınlık oluşturduğu ifade edilemese de, ilerde yapılacak daha fazla hastayı kapsayan çalışmalarda elde edilecek verilerin bu konuda yol gösterebileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

HKHN, son yıllarda giderek artan endikasyonlarla özellikle malign ve hematolojik hastalıklarda uygulanan, sağlıklı hematolojik ve immünolojik yapılanma sağlanılabilen ancak ölümle sonuçlanabilen ciddi komplikasyonlarla da ilişkili olabilen bir tedavi yöntemidir. İmmünsüpresif bireylerde viral enfeksiyonlar en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinin başında yer almaktadır. Özellikle latent virüsler, primer enfeksiyondan sonra ömür boyu latent kaldığından, HKHN nedeniyle immünsüprese olan bireylerde kolaylıkla reaktif olabilmektedir.

Nakil sonrası enfeksiyon riskini değerlendirmek için; donör ve alıcının dikkatli bir şekilde nakil öncesi taramasının yapılması, HKHN alıcılarının yönetimindeki en önemli adımlardan biridir. Çalışmamızda HSV-1/2, EBV, CMV, BK ve JC virüs gibi latent viral etkenlerin hematopoietik kök hücre nakli yapılan hastalarda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile varlığının araştırılması ve bu sayede HKHN sonrası bu latent enfeksiyonların sıklığının tespit edilmesi ve nakil tipine göre risk faktörleri ile karşılaştırmalarının yapılması amaçlanmıştır.

Allojenik HKHN olan hastalarda; toplam CMV, EBV ve BKV pozitifliğinin, otolog HKHN olan hastalara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuç rehberlerde de vurgulandığı gibi allojenik HKHN olan hastaların otolog HKHN olan hastalara göre daha riskli bir grup olduğunu ve yakın takip edilmesi gerektiğini desteklemektedir. Hem allojenik hem otolog HKHN yapılan hastalarda CMV pozitifliği ile cinsiyet, yaş, altta yatan hastalık, komorbid hastalık durumu, hazırlık rejimi, HLA uyumu arasında ilişki saptanmamıştır. AHKHN uygulanan

hastalarda; kadın cinsiyet, 50 ve üzeri yaş, komorbid hastalık varlığı, non-myeloablatif rejim uygulanması ve akraba dışı donör tipinin, OHKHN uygulanan hastalarda; erkek cinsiyet ve myeloablatif rejim uygulanmasının, latent virüs pozitiflik sayısı üzerinde oluşturduğu etki daha büyük örneklemelerle yapılacak çalışmalarla daha net bir şekilde ortaya konulabilecektir.

Güncel bilimsel veriler ışığında HKHN hastalarında latent virüs pozitifliği ile ilişkili risk faktörlerinin saptanması ve mümkünse engellenmesi, HKHN sonrası riskli gruplarda etkin profilaksi kullanımı ve viral yük takibi yapılarak pre-emptif tedavi yaklaşımının uygulanması, latent virüs ile ilişkili mortalite ve morbiditeyi önlemede en uygun yaklaşım olarak görünmektedir. Ancak bu hastaların yönetimi için standart bir yaklaşım belirlenmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç devam etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2006;354(17):1813-26.
2. Alankrita Taneja JHC, Ayman Saad. Viral infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Advances in Cell and Gene Therapy*. 28 December 2018.
3. Balfour HH, Jr., Verghese P. Primary Epstein-Barr virus infection: impact of age at acquisition, coinfection, and viral load. *J Infect Dis*. 2013;207(12):1787-9.
4. Kolodziejczak M, Gil L, de la Camara R, Styczynski J, Infectious Diseases Working Party ESfB, Marrow T. Impact of donor and recipient Epstein-Barr Virus serostatus on outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2021;100(3):763-77.
5. Camargo JF, Komanduri KV. Emerging concepts in cytomegalovirus infection following hematopoietic stem cell transplantation. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2017;10(4):233-8.
6. Hakimi Z, Ferchichi S, Aballea S, Odeyemi I, Toumi M, English M, et al. Burden of cytomegalovirus disease in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients: a national, matched cohort study in an inpatient setting. *Curr Res Transl Med*. 2018;66(4):95-101.
7. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2008;42 Suppl 1:S70-S2.
8. Sousa H, Boutolleau D, Ribeiro J, Teixeira AL, Pinho Vaz C, Campilho F, et al. Cytomegalovirus infection in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Portugal: a five-year retrospective review. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(12):1958-67.
9. Bennett SM, Broekema NM, Imperiale MJ. BK polyomavirus: emerging pathogen. *Microbes Infect*. 2012;14(9):672-83.
10. Pinto M, Dobson S. BK and JC virus: a review. *J Infect*. 2014;68 Suppl 1:S2-8.
11. Philippe M, Ranchon F, Gilis L, Schwiertz V, Vantard N, Ader F, et al. Cidofovir in the Treatment of BK Virus-Associated Hemorrhagic Cystitis after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(4):723-30.

12. Appelbaum FR. Hematopoietic Cell Transplantation In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's principles of internal medicine 2005.
13. Eapen M, Rocha V. Principles and analysis of hematopoietic stem cell transplantation outcomes: the physician's perspective. *Lifetime Data Anal.* 2008;14(4):379-88.
14. Jansen J. The first successful allogeneic bone-marrow transplant: Georges Mathe. *Transfus Med Rev.* 2005;19(3):246-8.
15. Korbling M, Anderlini P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter? *Blood.* 2001;98(10):2900-8.
16. Chen SH, Wang TF, Yang KL. Hematopoietic stem cell donation. *Int J Hematol.* 2013;97(4):446-55.
17. Ljungman P, Bregni M, Brune M, Cornelissen J, de Witte T, Dini G, et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe 2009. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(2):219-34.
18. Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chappuis B, Chopra R, Cornelissen JJ, et al. Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood.* 2000;95(12):3702-9.
19. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood.* 2007;110(4):1397-400.
20. Panch SR, Szymanski J, Savani BN, Stroncek DF. Sources of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Methods to Optimize Yields for Clinical Cell Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23(8):1241-9.
21. Cohen Y, Nagler A. Umbilical cord blood transplantation--how, when and for whom? *Blood Rev.* 2004;18(3):167-79.
22. Apperley J, Gluckman S, Eaves G, Masszi T. European School of Haematology 2008.
23. Afessa B, Azoulay E. Critical care of the hematopoietic stem cell transplant recipient. *Crit Care Clin.* 2010;26(1):133-50.

24. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;348(19):1875-83.
25. Price KJ, Thall PF, Kish SK, Shannon VR, Andersson BS. Prognostic indicators for blood and marrow transplant patients admitted to an intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158(3):876-84.
26. E: C. Early complications after HSCT.. in *The EBMT handbook on haematopoietic stem cell transplantation* Forum Service2012.
27. Sahin U, Toprak SK, Atila PA, Atila E, Demirer T. An overview of infectious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Chemother*. 2016;22(8):505-14.
28. Tichelli A, Rovo A, Passweg J, Schwarze CP, Van Lint MT, Arat M, et al. Late complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol*. 2009;2(5):583-601.
29. Metan G, Pala C, Kaynar L, Cevahir F, Alp E. A nightmare for haematology clinics: extensively drug-resistant (XDR) *Acinetobacter baumannii*. *Infez Med*. 2014;22(4):277-82.
30. Centers for Disease C, Prevention, Infectious Diseases Society of A, American Society of B, Marrow T. Guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000;6(6a):7-83.
31. Wingard JR, Hsu J, Hiemenz JW. Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology. *Infect Dis Clin North Am*. 2010;24(2):257-72.
32. Breuer S, Rauch M, Matthes-Martin S, Lion T. Molecular diagnosis and management of viral infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mol Diagn Ther*. 2012;16(2):63-77.
33. Kimura H, Ito Y, Suzuki R, Nishiyama Y. Measuring Epstein-Barr virus (EBV) load: the significance and application for each EBV-associated disease. *Rev Med Virol*. 2008;18(5):305-19.
34. Meyers JD, Ljungman P, Fisher LD. Cytomegalovirus excretion as a predictor of cytomegalovirus disease after marrow transplantation: importance of cytomegalovirus viremia. *J Infect Dis*. 1990;162(2):373-80.
35. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1986;51 Pt 1:263-73.

36. Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(6):1292-305.
37. Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(3):190-212.
38. Bustin SA, Mueller R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clin Sci (Lond).* 2005;109(4):365-79.
39. SEVİNDİK E, KIR AÇ, BAŞKEMER K, Veysel U. Hastalık Etmeni Patojen Teşhisinde PCR Teknolojisi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi.* 2013(2):131-5.
40. Babel N, Fendt J, Karaivanov S, Bold G, Arnold S, Sefrin A, et al. Sustained BK viruria as an early marker for the development of BKV-associated nephropathy: analysis of 4128 urine and serum samples. *Transplantation.* 2009;88(1):89-95.
41. Bauer CC, Aberle SW, Popow-Kraupp T, Kapitan M, Hofmann H, Puchhammer-Stockl E. Serum Epstein-Barr virus DNA load in primary Epstein-Barr virus infection. *J Med Virol.* 2005;75(1):54-8.
42. Cinque P, Scarpellini P, Vago L, Linde A, Lazzarin A. Diagnosis of central nervous system complications in HIV-infected patients: cerebrospinal fluid analysis by the polymerase chain reaction. *Aids.* 1997;11(1):1-17.
43. Eren S, Öztoprak N, Çevik M, Baran G, Erbay A, Akıncı E. Herpes simplex encephalitis cases. *Flora Derg.* 2005;10:148-50.
44. Kelly BJ, Fraefel C, Cunningham AL, Diefenbach RJ. Functional roles of the tegument proteins of herpes simplex virus type 1. *Virus Res.* 2009;145(2):173-86.
45. Gatherer D, Depledge DP, Hartley CA, Szpara ML, Vaz PK, Benko M, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae 2021. *J Gen Virol.* 2021;102(10).
46. Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. *Clinical Infectious Diseases.* 1998;541-53.
47. Heldwein E, Krummenacher C. Entry of herpesviruses into mammalian cells. *Cellular and molecular life sciences.* 2008;65:1653-68.
48. Watson Z, Dhumakupt A, Messer H, Phelan D, Bloom D. Role of polycomb proteins in regulating HSV-1 latency. *Viruses.* 2013;5(7):1740-57.
49. Habib H. Antiviral activity of enzymatically synthesized siRNA swarms against herpes simplex virus type 2 clinical strains.

50. Kukhanova MK, Korovina AN, Kochetkov SN. Human herpes simplex virus: life cycle and development of inhibitors. *Biochemistry (Mosc)*. 2014;79(13):1635-52.
51. James C, Harfouche M, Welton NJ, Turner KM, Abu-Raddad LJ, Gottlieb SL, et al. Herpes simplex virus: global infection prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ*. 2020;98(5):315-29.
52. Zhu S, Viejo-Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*. 2021;12(1):2670-702.
53. Yoshida Y, Li Z, Kurokawa M, Kawana T, Imakita M, Shiraki K. Growth of herpes simplex virus in epidermal keratinocytes determines cutaneous pathogenicity in mice. *J Med Virol*. 2005;75(3):421-6.
54. Campadelli-Fiume G, Cocchi F, Menotti L, Lopez M. The novel receptors that mediate the entry of herpes simplex viruses and animal alphaherpesviruses into cells. *Rev Med Virol*. 2000;10(5):305-19.
55. Cunningham AL, Diefenbach RJ, Miranda-Saksena M, Bosnjak L, Kim M, Jones C, et al. The cycle of human herpes simplex virus infection: virus transport and immune control. *J Infect Dis*. 2006;194 Suppl 1:S11-8.
56. Knipe DM, Cliffe A. Chromatin control of herpes simplex virus lytic and latent infection. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6(3):211-21.
57. van Velzen M, Jing L, Osterhaus AD, Sette A, Koelle DM, Verjans GM. Local CD4 and CD8 T-cell reactivity to HSV-1 antigens documents broad viral protein expression and immune competence in latently infected human trigeminal ganglia. *PLoS Pathog*. 2013;9(8):e1003547.
58. Cole S. Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nurs Clin North Am*. 2020;55(3):337-45.
59. Whitley R, Baines J. Clinical management of herpes simplex virus infections: past, present, and future. *F1000Res*. 2018;7.
60. Wormser VR, Agudelo Higuera NI, Ramaswami R, Melendez DP. Hematopoietic stem cell transplantation and the noncytomegalovirus herpesviruses. *Transpl Infect Dis*. 2023;25 Suppl 1:e14201.
61. Singh A, Preiksaitis J, Ferenczy A, Romanowski B. The laboratory diagnosis of herpes simplex virus infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(2):92-8.
62. Prince HE, Ernst CE, Hogrefe WR. Evaluation of an enzyme immunoassay system for measuring herpes simplex virus (HSV) type 1-specific and HSV type 2-specific IgG antibodies. *J Clin Lab Anal*. 2000;14(1):13-6.

63. Stevenson J, Hymas W, Hillyard D. Effect of sequence polymorphisms on performance of two real-time PCR assays for detection of herpes simplex virus. *J Clin Microbiol.* 2005;43(5):2391-8.
64. Madhavan HN, Priya K, Anand AR, Therese KL. Detection of herpes simplex virus (HSV) genome using polymerase chain reaction (PCR) in clinical samples comparison of PCR with standard laboratory methods for the detection of HSV. *J Clin Virol.* 1999;14(2):145-51.
65. LeGoff J, Pere H, Belec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. *Virol J.* 2014;11:83.
66. Groves MJ. Genital Herpes: A Review. *Am Fam Physician.* 2016;93(11):928-34.
67. Mackie P. The classification of viruses infecting the respiratory tract. *Paediatric respiratory reviews.* 2003;4(2):84-90.
68. Gershon AA, Breuer J, Cohen JI, Cohrs RJ, Gershon MD, Gilden D, et al. Varicella zoster virus infection. *Nat Rev Dis Primers.* 2015;1:15016.
69. Kennedy PGE, Gershon AA. Clinical Features of Varicella-Zoster Virus Infection. *Viruses.* 2018;10(11).
70. Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol.* 2006;1:375-404.
71. Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(10):757-68.
72. Murray PR, K.S. R, Pfaller, M.A. *Medical Microbiology:Elsevier Health Sciences*2015.
73. Murray PG, Young LS. Epstein-Barr virus infection: basis of malignancy and potential for therapy. *Expert Rev Mol Med.* 2001;3(28):1-20.
74. Tao Q, Young LS, Woodman CB, Murray PG. Epstein-Barr virus (EBV) and its associated human cancers--genetics, epigenetics, pathobiology and novel therapeutics. *Front Biosci.* 2006;11:2672-713.
75. Brooks JM, Croom-Carter DS, Leese AM, Tierney RJ, Habeshaw G, Rickinson AB. Cytotoxic T-lymphocyte responses to a polymorphic Epstein-Barr virus epitope identify healthy carriers with coresident viral strains. *J Virol.* 2000;74(4):1801-9.
76. Erensoy S, Zeytinoğlu A, Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Epstein-Barr virüs İstanbul: Nobel Kitapevi*2008.

77. Durmuş Ş, Önel M, Ünüvar E, Ağaçfıdan A. Detection of EBV-DNA in Children With Prolonged Lymphadenopathy. *Turk Mikrobiyol Cem Derg.* 2018;48(4):235-40.
78. He YQ, Xue WQ, Xu FH, Xu YF, Zhang JB, Yu HL, et al. The Relationship Between Environmental Factors and the Profile of Epstein-Barr Virus Antibodies in the Lytic and Latent Infection Periods in Healthy Populations from Endemic and Non-Endemic Nasopharyngeal Carcinoma Areas in China. *EBioMedicine.* 2018;30:184-91.
79. Hsu JL, Glaser SL. Epstein-barr virus-associated malignancies: epidemiologic patterns and etiologic implications. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2000;34(1):27-53.
80. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *Journal of clinical microbiology.* 2004;42(8):3381-7.
81. Toyoda M, Moudgil A, Warady BA, Puliya DP, Jordan SC. Clinical significance of peripheral blood Epstein-Barr viral load monitoring using polymerase chain reaction in renal transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2008;12(7):778-84.
82. Straus SE, Cohen JI, Tosato G, Meier J. NIH conference. Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management. *Ann Intern Med.* 1993;118(1):45-58.
83. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *New England journal of medicine.* 2000;343(7):481-92.
84. Carbone A, Gloghini A, Dotti G. EBV-associated lymphoproliferative disorders: classification and treatment. *Oncologist.* 2008;13(5):577-85.
85. Colombini E, Guzzo I, Morolli F, Longo G, Russo C, Lombardi A, et al. Viral load of EBV DNAemia is a predictor of EBV-related post-transplant lymphoproliferative disorders in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(8):1433-42.
86. Jenson HB. Epstein-Barr virus. *Pediatrics in review.* 2011;32(9):375-84.
87. Fidan I, Yüksel S, İmir T. Değişik yaş gruplarında Epstein-Barr virus antikorlarının araştırılması. *J Infect.* 2005;19:453-6.
88. Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *J Mol Diagn.* 2001;3(1):1-10.
89. Santos CA. Cytomegalovirus and Other beta-Herpesviruses. *Semin Nephrol.* 2016;36(5):351-61.

90. Gugliesi F, Coscia A, Griffante G, Galitska G, Pasquero S, Albano C, et al. Where do we Stand after Decades of Studying Human Cytomegalovirus? *Microorganisms*. 2020;8(5).
91. Hodinka RL, Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Landry ML, Funke G, et al. *Manual of Clinical Microbiology*. Human Cytomegalovirüs 2016;1718-1736.
92. Topçu A.W SG, Doğanay M. (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi kitabında*. Us T. Cytomegalovirüs (HHV5) 2017. 1485-92 p.
93. Lurain NS, Chou S. Antiviral drug resistance of human cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(4):689-712.
94. Jean Beltran PM, Cristea IM. The life cycle and pathogenesis of human cytomegalovirus infection: lessons from proteomics. *Expert Rev Proteomics*. 2014;11(6):697-711.
95. Smith NA, Chan GC, O'Connor CM. Modulation of host cell signaling during cytomegalovirus latency and reactivation. *Virol J*. 2021;18(1):207.
96. Çolak D, Mutlu D, Us AD, Ergünay K. *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji Kitabında*. Bilimsel tıp Yayınevi, Ankara 2012.
97. Cho SY, Lee DG, Kim HJ. Cytomegalovirus Infections after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Current Status and Future Immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2019;20(11).
98. Manicklal S, Emery VC, Lazzarotto T, Boppana SB, Gupta RK. The "silent" global burden of congenital cytomegalovirus. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(1):86-102.
99. Zeytinoğlu A, Erensoy S, ark GSv. Sitomegalovirüs hastalığında antijenemi testi ile kantitatif DNA testinin karşılaştırılması. *FLORA* 2002 7(4).241-5.
100. D Ç, D Ö. Sitomegalovirüs infeksiyonlarında tanı yöntemleri. *Flora* 1999;4(2). 2016;59:182-187:82-9.
101. Mercorelli B, Sinigalia E, Loregian A, Palu G. Human cytomegalovirus DNA replication: antiviral targets and drugs. *Rev Med Virol*. 2008;18(3):177-210.
102. Walti CS, Khanna N, Avery RK, Helantera I. New Treatment Options for Refractory/Resistant CMV Infection. *Transpl Int*. 2023;36:11785.
103. Meesing A, Razonable RR. New Developments in the Management of Cytomegalovirus Infection After Transplantation. *Drugs*. 2018;78(11):1085-103.

- 104.Lamarche C, Orio J, Collette S, Senecal L, Hebert MJ, Renoult E, et al. BK Polyomavirus and the Transplanted Kidney: Immunopathology and Therapeutic Approaches. *Transplantation*. 2016;100(11):2276-87.
- 105.Hurdiss DL, Morgan EL, Thompson RF, Prescott EL, Panou MM, Macdonald A, et al. New Structural Insights into the Genome and Minor Capsid Proteins of BK Polyomavirus using Cryo-Electron Microscopy. *Structure*. 2016;24(4):528-36.
- 106.Helle F, Brochot E, Handala L, Martin E, Castelain S, Francois C, et al. Biology of the BKPyV: An Update. *Viruses*. 2017;9(11).
- 107.Varella RB, Almeida JR, Lopes Pde F, Matos JP, Menezes P, Lugon JR. BK polyomavirus in kidney transplant recipients: screening, monitoring and clinical management. *J Bras Nefrol*. 2014;36(4):529-34.
- 108.Krejci K, Tichy T, Bednarikova J, Zamboch K, Zadrazil J. BK virus-induced renal allograft nephropathy. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2018;162(3):165-77.
- 109.Chong S, Antoni M, Macdonald A, Reeves M, Harber M, Magee CN. BK virus: Current understanding of pathogenicity and clinical disease in transplantation. *Rev Med Virol*. 2019;29(4):e2044.
- 110.Rinaldo CH, Tylden GD, Sharma BN. The human polyomavirus BK (BKPyV): virological background and clinical implications. *APMIS*. 2013;121(8):728-45.
- 111.Tremolada S, Akan S, Otte J, Khalili K, Ferrante P, Chaudhury PR, et al. Rare subtypes of BK virus are viable and frequently detected in renal transplant recipients with BK virus-associated nephropathy. *Virology*. 2010;404(2):312-8.
- 112.Ikegaya H, Motani H, Saukko P, Sato K, Akutsu T, Sakurada K. BK virus genotype distribution offers information of tracing the geographical origins of unidentified cadaver. *Forensic Sci Int*. 2007;173(1):41-6.
- 113.Borriello M, Ingrosso D, Perna AF, Lombardi A, Maggi P, Altucci L, et al. BK Virus Infection and BK-Virus-Associated Nephropathy in Renal Transplant Recipients. *Genes (Basel)*. 2022;13(7).
- 114.Levican J, Acevedo M, Leon O, Gaggero A, Aguayo F. Role of BK human polyomavirus in cancer. *Infect Agent Cancer*. 2018;13:12.
- 115.Kuppachi S, Thomas B, Kokko KE. BK virus in the kidney transplant patient. *Am J Med Sci*. 2013;345(6):482-8.

- 116.Sharma R, Tzetzso S, Patel S, Zachariah M, Sharma S, Melendy T. BK Virus in Kidney Transplant: Current Concepts, Recent Advances, and Future Directions. *Exp Clin Transplant*. 2016;14(4):377-84.
- 117.Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(2):503-28.
- 118.Balba GP, Javaid B, Timpone JG, Jr. BK polyomavirus infection in the renal transplant recipient. *Infect Dis Clin North Am*. 2013;27(2):271-83.
- 119.Eksi F, Karsligil T, Gundes I, Saglam M, Kirik MP, Budeyri MS, et al. Investigation of BK Virus by Real-Time Polymerase Chain Reaction in Patients With Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Transplant Proc*. 2018;50(5):1510-3.
- 120.Gupta N, Lawrence RM, Nguyen C, Modica RF. Review article: BK virus in systemic lupus erythematosus. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2015;13:34.
- 121.Nihei CH, Pierrotti LC, David-Neto E. Analysis of diagnostic methods as a screening test to detect BK virus nephropathy in kidney transplant patients. *J Bras Nefrol*. 2016;38(3):277-9.
- 122.Burgos D, Jironda C, Martin M, Gonzalez-Molina M, Hernandez D. [BK-virus-associated Nephropathy]. *Nefrologia*. 2010;30(6):613-7.
- 123.Babel N, Volk HD, Reinke P. BK polyomavirus infection and nephropathy: the virus-immune system interplay. *Nat Rev Nephrol*. 2011;7(7):399-406.
- 124.Gouvea AL, Cosendey RI, Carvalho FR, Varella RB, de Souza CF, Lopes PF, et al. Pilot Study of Early Monitoring Using Urinary Screening for BK Polyomavirus as a Strategy for Prevention of BKV Nephropathy in Kidney Transplantation. *Transplant Proc*. 2016;48(7):2310-4.
- 125.Beichert CJ, Schnadig VJ, Payne DA, Dong J. Monitoring of BK viral load in renal allograft recipients by real-time PCR assays. *Am J Clin Pathol*. 2010;133(2):242-50.
- 126.Mbianda C, El-Meanawy A, Sorokin A. Mechanisms of BK virus infection of renal cells and therapeutic implications. *J Clin Virol*. 2015;71:59-62.
- 127.Padgett B, Zurhein G, Walker D, Eckroade R, Dessel B. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *The Lancet*. 1971;297(7712):1257-60.
- 128.Tan CS, Koralnik IJ. Progressive multifocal leucoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol*. 2010;9(4):425-37.

129. Pietropaolo V, Prezioso C, Bagnato F, Antonelli G. John Cunningham virus: an overview on biology and disease of the etiological agent of the progressive multifocal leukoencephalopathy. *New Microbiol.* 2018;41(3):179-86.
130. Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DW, et al. Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40. *Journal of medical virology.* 2003;71(1):115-23.
131. Moens U, Van Ghelue M, Song X, Ehlers B. Serological cross-reactivity between human polyomaviruses. *Reviews in Medical Virology.* 2013;23(4):250-64.
132. Bofill-Mas S, Girones R. Role of the environment in the transmission of JC virus. *Journal of neurovirology.* 2003;9:54-8.
133. Monaco M, Atwood WJ, Gravell M, Tornatore CS, Major EO. JC virus infection of hematopoietic progenitor cells, primary B lymphocytes, and tonsillar stromal cells: implications for viral latency. *Journal of virology.* 1996;70(10):7004-12.
134. Arthur R, Shah K. Occurrence and significance of papovaviruses BK and JC in the urine. *Progress in medical virology Fortschritte der medizinischen Virusforschung Progres en virologie medicale.* 1989;36:42-61.
135. Lima MA, Drislane FW, Koralnik IJ. Seizures and their outcome in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology.* 2006;66(2):262-4.
136. Marzocchetti A, Lima M, Tompkins T, Kavanagh DG, Gandhi RT, O'Neill DW, et al. Efficient in vitro expansion of JC virus-specific CD8⁺ T-cell responses by JCV peptide-stimulated dendritic cells from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Virology.* 2009;383(2):173-7.
137. Erard V, Boeckh M. BK, JC, and Other Human Polyomaviruses. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases: Elsevier;* 2012. p. 1075-7. e4.
138. Tan CS, Koralnik IJ. JC, BK, and Other polyomaviruses: Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 8th ed Philadelphia: Elsevier Saunders.* 2015.
139. Moll N, Rietsch A, Ransohoff A, Cossoy M, Huang D, Eichler F, et al. Cortical demyelination in PML and MS: similarities and differences. *Neurology.* 2008;70(5):336-43.
140. Antinori A, Cingolani A, Lorenzini P, Giancola ML, Uccella I, Bossolasco S, et al. Clinical epidemiology and survival of progressive multifocal leukoencephalopathy in the era of highly active antiretroviral therapy: data

from the Italian Registry Investigative Neuro AIDS (IRINA). *Journal of neurovirology*. 2003;9:47-53.

141. Bernard-Valnet R, Koralnik IJ, Du Pasquier R. Advances in Treatment of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Ann Neurol*. 2021;90(6):865-73.
142. D'Souza A, Fretham C, Lee SJ, Arora M, Brunner J, Chhabra S, et al. Current Use of and Trends in Hematopoietic Cell Transplantation in the United States. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020;26(8):e177-e82.
143. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, Basak GW, Corbacioglu S, Duarte R, et al. The EBMT activity survey on hematopoietic-cell transplantation and cellular therapy 2018: CAR-T's come into focus. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(8):1604-13.
144. George B, Pati N, Gilroy N, Ratnamohan M, Huang G, Kerridge I, et al. Pre-transplant cytomegalovirus (CMV) serostatus remains the most important determinant of CMV reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the era of surveillance and preemptive therapy. *Transpl Infect Dis*. 2010;12(4):322-9.
145. Manjappa S, Bhamidipati PK, Stokerl-Goldstein KE, DiPersio JF, Uy GL, Westervelt P, et al. Protective effect of cytomegalovirus reactivation on relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia patients is influenced by conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(1):46-52.
146. Worel N, Biener D, Kalhs P, Mitterbauer M, Keil F, Schulenburg A, et al. Long-term outcome and quality of life of patients who are alive and in complete remission more than two years after allogeneic and syngeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002;30(9):619-26.
147. MacMillan ML, Robin M, Harris AC, DeFor TE, Martin PJ, Alousi A, et al. A refined risk score for acute graft-versus-host disease that predicts response to initial therapy, survival, and transplant-related mortality. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(4):761-7.
148. Cohen L, Yeshurun M, Shpilberg O, Ram R. Risk factors and prognostic scale for cytomegalovirus (CMV) infection in CMV-seropositive patients after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2015;17(4):510-7.
149. Sim BZ, Yong KY, Slavin MA, Yong MK. Risk factors and outcome of concurrent and sequential multiviral cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, BK virus, adenovirus and other viral reactivations in transplantation. *Curr Opin Infect Dis*. 2022;35(6):536-44.

- 150.Qamruddin AO, Oppenheim BA, Guiver M, Mutton KJ, Chopra R. Screening for cytomegalovirus (CMV) infection in allogeneic bone marrow transplantation using a quantitative whole blood polymerase chain reaction (PCR) method: analysis of potential risk factors for CMV infection. *Bone Marrow Transplant.* 2001;27(3):301-6.
- 151.Kang KW, Jeon MJ, Yu ES, Kim DS, Lee BH, Lee SR, et al. Cytomegalovirus reactivation under pre-emptive therapy following allogeneic hematopoietic stem cell transplant: Pattern, survival, and risk factors in the Republic of Korea. *PLoS One.* 2023;18(9):e0291268.
- 152.Ghaffari SH, Obeidi N, Dehghan M, Alimoghaddam K, Gharehbaghian A, Ghavamzadeh A. Monitoring of cytomegalovirus reactivation in bone marrow transplant recipients by real-time PCR. *Pathol Oncol Res.* 2008;14(4):399-409.
- 153.Einsele H, Hebart H, Kauffmann-Schneider C, Sinzger C, Jahn G, Bader P, et al. Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection. *Bone Marrow Transplant.* 2000;25(7):757-63.
- 154.Rossini F, Terruzzi E, Cammarota S, Morini F, Fumagalli M, Verga L, et al. Cytomegalovirus infection after autologous stem cell transplantation: incidence and outcome in a group of patients undergoing a surveillance program. *Transplant infectious disease.* 2005;7(3-4):122-5.
- 155.Fassas AT, Bolaños-Meade J, Buddharaju L, Rapoport A, Cottler-Fox M, Chen T, et al. Cytomegalovirus infection and non-neutropenic fever after autologous stem cell transplantation: high rates of reactivation in patients with multiple myeloma and lymphoma. *British journal of haematology.* 2001;112(1):237-41.
- 156.Marchesi F, Giannotti F, Avvisati G, Petti MC, Pimpinelli F, Paba P, et al. The potential role of pre-transplant HBcIgG seropositivity as predictor of clinically relevant cytomegalovirus infection in patients with lymphoma undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation: A study from the Rome Transplant Network. *American journal of hematology.* 2012;87(2):213-7.
- 157.Marchesi F, Pimpinelli F, Gumenyuk S, Renzi D, Palombi F, Pisani F, et al. Cytomegalovirus reactivation after autologous stem cell transplantation in myeloma and lymphoma patients: A single-center study. *World J Transplant.* 2015;5(3):129-36.
- 158.Massoud R, Assi R, Fares E, Haffar B, Charafeddine M, Kreidieh N, et al. Cytomegalovirus reactivation in lymphoma and myeloma patients undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *J Clin Virol.* 2017;95:36-41.

159. Ru Y, Zhang X, Song T, Ding Y, Zhu Z, Fan Y, et al. Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: multifactorial impact on transplant outcomes. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55(9):1754-62.
160. Wang H, Zhang TT, Qi JQ, Chu TT, Miao M, Qiu HY, et al. Incidence, risk factors, and clinical significance of Epstein-Barr virus reactivation in myelodysplastic syndrome after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol.* 2019;98(4):987-96.
161. Peric Z, Cahu X, Chevallier P, Brissot E, Malard F, Guillaume T, et al. Features of Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation after reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia.* 2011;25(6):932-8.
162. Rouce RH, Louis CU, Heslop HE. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease after hematopoietic stem cell transplant. *Curr Opin Hematol.* 2014;21(6):476-81.
163. Li SS, Zhang N, Jia M, Su M. Association Between Cytomegalovirus and Epstein-Barr Virus Co-Reactivation and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:818167.
164. Marjanska A, Styczynski J. Who is the patient at risk for EBV reactivation and disease: expert opinion focused on post-transplant lymphoproliferative disorders following hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther.* 2023;23(6):539-52.
165. Cesaro S, Dalianis T, Hanssen Rinaldo C, Koskenvuo M, Pegoraro A, Einsele H, et al. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(1):12-21.
166. Rorije NM, Shea MM, Satyanarayana G, Hammond SP, Ho VT, Baden LR, et al. BK virus disease after allogeneic stem cell transplantation: a cohort analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014;20(4):564-70.
167. Gilis L, Morisset S, Billaud G, Ducastelle-Lepretre S, Labussiere-Wallet H, Nicolini FE, et al. High burden of BK virus-associated hemorrhagic cystitis in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(5):664-70.
168. Zhou X, Zhang S, Fan J, Zhu X, Hu S. Risk factors for BK virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Clin Transplant.* 2023;37(11):e15121.

169. Leung AY, Chan M, Cheng VC, Lie AK, Yuen KY, Kwong YL. Polyoma BK viruria in patients undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35(10):1029-30.
170. Wittmann T, Horowitz N, Benyamini N, Henig I, Zuckerman T, Rowe JM, et al. JC polyomavirus reactivation is common following allogeneic stem cell transplantation and its preemptive detection may prevent lethal complications. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(7):984-91.
171. Hu J, Li S, Yang M, Xu L, Zhang X, Zhao H, et al. Incidence, risk factors and the effect of polyomavirus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Int Med Res*. 2017;45(2):762-70.
172. Zeng Q, Xiang B, Liu Z. Profile and Antibiotic Pattern of Blood Stream Infections of Patients Receiving Hematopoietic Stem Cell Transplants in Southwest China. *Infect Drug Resist*. 2022;15:2045-54.
173. Heston SM, Young RR, Hong H, Akinboyo IC, Tanaka JS, Martin PL, et al. Microbiology of Bloodstream Infections in Children After Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Single-Center Experience Over Two Decades (1997-2017). *Open Forum Infect Dis*. 2020;7(11):ofaa465.
174. Song W, Song X, Zhu Y, Ren Y, Xu J, Zhu Q. Microbiology and Clinical Outcome of Bloodstream Infections in Patients After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Infect Drug Resist*. 2023;16:5375-86.
175. Oksuz L, Hindilerden IY, Erciyestepe M, Onel M, Hindilerden F, Cagatay A, et al. The association of CMV infection with bacterial and fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients: a retrospective single-center study. *New Microbiol*. 2022;45(1):40-50.
176. Al-Rawi O, Abdel-Rahman F, Al-Najjar R, Abu-Jazar H, Salam M, Saad M. Cytomegalovirus Reactivation in Adult Recipients of Autologous Stem Cell Transplantation: a Single Center Experience. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2015;7(1):e2015049.
177. Rossini F, Terruzzi E, Cammarota S, Morini F, Fumagalli M, Verga L, et al. Cytomegalovirus infection after autologous stem cell transplantation: incidence and outcome in a group of patients undergoing a surveillance program. *Transpl Infect Dis*. 2005;7(3-4):122-5.
178. Ito S, Pophali P, Co W, Koklanaris EK, Superata J, Fahle GA, et al. CMV reactivation is associated with a lower incidence of relapse after allo-SCT for CML. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(10):1313-6.

179. Zallio F, Primon V, Tamiazzo S, Pini M, Baraldi A, Corsetti MT, et al. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation. *Clin Transplant*. 2013;27(4):E491-7.
180. Fan J, Jing M, Yang M, Xu L, Liang H, Huang Y, et al. Herpesvirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients seropositive for human cytomegalovirus before transplantation. *Int J Infect Dis*. 2016;46:89-93.
181. Saade A, Gras J, Darmon M, Michonneau D, Dhedin N, Feghoul L, et al. Incidence, risk factors and outcome of BK virus hemorrhagic cystitis following allogeneic hematopoietic cell transplantation: a retrospective cohort study. *Bone Marrow Transplant*. 2022;57(8):1287-94.
182. Atilla E, Ates C, Uslu A, Ataca Atilla P, Dolapci I, Tekeli A, et al. Prospective Analysis of Hemorrhagic Cystitis and BK Viremia in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Turk J Haematol*. 2020;37(3):186-92.
183. Lee BH, Jeon MJ, Yu ES, Kang KW, Kim DS, Lee SR, et al. Prognostic outcomes of cytomegalovirus reactivation after autologous stem cell transplantation. *Int J Med Sci*. 2023;20(2):186-93.
184. Bilgrami S, Aslanzadeh J, Feingold JM, Bona RD, Clive J, Dorsky D, et al. Cytomegalovirus viremia, viruria and disease after autologous peripheral blood stem cell transplantation: no need for surveillance. *Bone Marrow Transplant*. 1999;24(1):69-73.
185. Junghanss C, Boeckh M, Carter RA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, et al. Incidence and outcome of cytomegalovirus infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation, a matched control study. *Blood*. 2002;99(6):1978-85.
186. Lin HC, Han SM, Hwang WL, Chou CW, Chang KH, Shi ZY, et al. Cytomegalovirus Infection and Treatment in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Retrospective Study from a Single Institution in an Endemic Area. *Turk J Haematol*. 2017;34(2):159-66.
187. Oh SJ, Lee KH, Lee JH, Choi SJ, Kim WK, Lee JS, et al. The risk of cytomegalovirus infection in non-myeloablative peripheral stem cell transplantation compared with conventional bone marrow transplantation. *J Korean Med Sci*. 2004;19(2):172-6.
188. Kumar M, Roychowdhury M, Kumar J, Harishankar A, Sinha S, Bhav SJ, et al. Cytomegalovirus reactivation and disease amongst patients with allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in Eastern India: Epidemiology, outcome and healthcare cost. *Indian J Med Microbiol*. 2018;36(1):49-53.

- 189.Marty FM, Bryar J, Browne SK, Schwarzberg T, Ho VT, Bassett IV, et al. Sirolimus-based graft-versus-host disease prophylaxis protects against cytomegalovirus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a cohort analysis. *Blood*. 2007;110(2):490-500.
- 190.Ozdemir E, Saliba RM, Champlin RE, Couriel DR, Giralt SA, de Lima M, et al. Risk factors associated with late cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*. 2007;40(2):125-36.
- 191.Kimura SI, Tamaki M, Okinaka K, Seo S, Uchida N, Igarashi A, et al. Cytomegalovirus reactivation is associated with an increased risk of late-onset invasive aspergillosis independently of grade II-IV acute graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: JSTCT Transplant Complications Working Group. *Ann Hematol*. 2021;100(12):3029-38.
- 192.Inazawa N, Hori T, Nojima M, Saito M, Igarashi K, Yamamoto M, et al. Virus reactivations after autologous hematopoietic stem cell transplantation detected by multiplex PCR assay. *J Med Virol*. 2017;89(2):358-62.
- 193.Inazawa N, Hori T, Hatakeyama N, Yamamoto M, Yoto Y, Nojima M, et al. Large-scale multiplex polymerase chain reaction assay for diagnosis of viral reactivations after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Med Virol*. 2015;87(8):1427-35.
- 194.Schonberger S, Meisel R, Adams O, Pufal Y, Laws HJ, Enczmann J, et al. Prospective, comprehensive, and effective viral monitoring in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(10):1428-35.
- 195.Yamada M, Sakamoto K, Tomizawa D, Ishikawa Y, Matsui T, Gocho Y, et al. A Prospective Viral Monitoring Study After Pediatric Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Malignant and Nonmalignant Diseases. *Transplant Cell Ther*. 2021;27(10):872 e1- e8.
- 196.Duver F, Weissbrich B, Eyrych M, Wolfl M, Schlegel PG, Wiegering V. Viral reactivations following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A single center 11-year analysis. *PLoS One*. 2020;15(2):e0228451.

197. Rustia E, Violago L, Jin Z, Foca MD, Kahn JM, Arnold S, et al. Risk Factors and Utility of a Risk-Based Algorithm for Monitoring Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, and Adenovirus Infections in Pediatric Recipients after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(9):1646-53.



8. ÖZET

Hematopoietik Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Latent Viral Enfeksiyon Sıklığının Belirlenmesi

HKHN sonrası immünsüpresyona bağlı olarak, hastalarda görülen viral enfeksiyonlar, en önemli mortalite ve morbidite nedenlerini oluşturmaktadır. Çalışmamızda HSV-1/2, EBV, CMV, BK ve JC virüs gibi latent viral etkenlerin hematopoietik kök hücre nakli yapılan hastalarda gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile varlığının araştırılması ve bu sayede HKHN sonrası bu latent enfeksiyonların sıklığının tespit edilmesi ve nakil tipine göre risk faktörleri ile karşılaştırmalarının yapılması amaçlanmıştır. Hastaların yaş ve cinsiyet bilgileri, alta yatan hematolojik hastalık, komorbid hastalık durumu, nakil tipi, nakil öncesi uygulanan hazırlık rejimi türü ve HLA uyumları inceleyip, latent virüs pozitiflik durumu üzerine etkisi analiz edilmiştir.

Çalışmamıza Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Erişkin Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde 2018 -2022 yılları arasında HKHN yapılan 350 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan alınan örnekler latent viral etkenlerin tespiti amacıyla gerçek zamanlı PZR yöntemi ile çalışılmıştır. HKHN yapılan hastaların %60'ında nakil sonrası tek bir latent viral enfeksiyon etkeni tespit edilirken, %20'sinde 2 ve üzeri latent viral enfeksiyon etkeni belirlenmiştir. AHKHN ve OHKHN yapılan hastalarda nakil sonrası en sık gözlenen latent viral enfeksiyon etkeninin CMV olduğu belirlenmiştir. AHKHN yapılan hastalarda toplam CMV pozitifliği %79,1;

toplam EBV pozitifliği %22,3; toplam BKV pozitifliği %13,1 ve toplam JCV pozitifliği %0,5 olarak tespit edilmiştir. OHKHN yapılan hastalarda toplam CMV pozitifliği %77,7; toplam EBV pozitifliği %3,5 ve toplam BKV pozitifliği %2,7 olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak AHKHN olan hastalarda; toplam CMV, EBV ve BKV pozitifliğinin, OHKHN olan hastalara göre daha fazla oranda olduğu görülmüştür. Bu sonuç rehberlerde de vurgulandığı gibi AHKHN olan hastaların OHKHN olan hastalara göre daha riskli bir grup olduğunu desteklemektedir. HKHN yapılan hastalarda, latent viral enfeksiyon etkenlerinin erken tanı ve tedavisi açısından risk faktörlerinin bilinmesi ve araştırılmasına yönelik daha geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Hematopoietik kök hücre nakli, latent viral enfeksiyon, PZR

9. SUMMARY

Determination of the Frequency of Latent Viral Infection in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Due to immunosuppression after HSCT, viral infections observed in patients constitute the most important causes of mortality and morbidity. In our study, we investigated the presence of latent viral factors such as HSV-1/2, EBV, CMV, BK and JC virus by real-time polymerase chain reaction in patients who underwent hematopoietic stem cell transplantation and in this way, it was aimed to determine the frequency of these latent infections after HSCT and to compare them with risk factors according to the type of transplantation. The patients' age and gender information, underlying hematological disease, co-morbid disease status, type of transplant, stem cell source, type of preparation regimen applied before transplant and HLA compliance were examined and the effect on latent virus positivity status was analyzed.

Our study included 350 patients who underwent HSCT between 2018 and 2022 at Gazi University Faculty of Medicine Hospital Adult Bone Marrow Transplantation Unit. Samples taken from patients were studied by the real-time PCR method to detect latent viral factors. While a single latent viral infection agent is detected after transplantation in 60% of patients who underwent HSCT, 2 or more latent viral infection agents are identified in 20%. It has been determined that CMV is the most common latent viral infection agent after transplantation in patients

undergoing Allogeneic HSCT and Autologous HSCT. In patients who underwent Allogeneic HSCT, total CMV positivity was found to be 79.1%; total EBV positivity was 22.3%; total BKV positivity was 13.1% and total JCV positivity was 0.5%. In patients who underwent HSCT, total CMV positivity was determined as 77.7%, total EBV positivity was 3.5%, and total BKV positivity was 2.7%. In patients who underwent Autologous HSCT, total CMV positivity was determined as 77.7%, total EBV positivity was 3.5%, and total BKV positivity was 2.7%.

As a result, in patients with Allogeneic HSCT; It was observed that total CMV, EBV and BKV positivity was higher than in patients with Autologous HSCT. This result supports that patients with HSCT are a higher risk group than patients with HSCT, as emphasized in the guidelines. There is a need for more comprehensive studies to know and investigate risk factors for early diagnosis and treatment of latent viral infection agents in patients undergoing HSCT.

Key words: Hematopoietic stem cell transplantation, latent viral infection, PCR