

Allojenik Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu Yapılan Çocuklarda Sitomegalovirüs, Epstein-Barr Virüs ve Adenovirüs İnfeksiyonlarının Araştırılması

Investigation of Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus and Adenovirus Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) in Pediatric Patients

Nazlı Nida KAYA¹, Serhan KÜPELİ², Gökhan ÖZTÜRK¹, İbrahim BAYRAM², Deniz ÖZDOĞRU SAĞDIÇ¹, Gülay SEZGİN², Fatih KÖKSAL¹, Fügen YARKIN¹

¹ Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji Bilim Dalı, Adana, Türkiye

² Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Adana, Türkiye

ÖZET

Giriş: Hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HKHT) yapılan hastalarda immünsüpresif tedaviye bağlı viral infeksiyonlar özellikle sitomegalovirüs (CMV), Epstein-Barr virüs (EBV) ve adenovirüs (ADV) infeksiyonları morbidite ve mortalitenin başlıca sebebidir. Bu çalışmada, HKHT yapılan çocuk hastalarda CMV, EBV ve ADV infeksiyonlarının insidansının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya Kasım 2015-Kasım 2016 tarihleri arasında HKHT yapılan, yaşları 16 ay ile 16 yıl arasında değişen toplam 51 çocuk hasta dahil edilmiştir. Hastaların 46'sına allojenik, beşine olog HKHT yapılmıştır. CMV, EBV ve ADV viral yükünün kanda tespiti için kantitatif real-time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (Anatolia Geneworks, Türkiye) testi kullanılmıştır.

Bulgular: Allojenik HKHT yapılan 46 hastada tekli infeksiyon veya koinfeksiyon şeklinde olmak üzere %26 (n= 12)'sında CMV, %26 (n= 12)'sında EBV ve %2.1 (n= 1)'inde ADV viral yükü 1000 kopya/ml'nin üstünde bulunmuştur. Allojenik HKHT alıcısı 20 (%43.4) hastaya preemtif tedavi uygulanmış ve 19'unda viremi temizlenmiştir. Sadece 1 (%2.1) hasta EBV infeksiyonu ve akut graft versus host hastalığı (GVHH) sebebiyle kaybedilmiştir.

Sonuç: HKHT yapılan hastalarda viral yük izlenerek erken tanı konulması ve preemtif tedavinin başlanması viral infeksiyonlara bağlı oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi için önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Sitomegalovirüs; Epstein-Barr virüs; Adenovirüs; Real-time PCR; Hematopoietik kök hücre transplantasyonu

SUMMARY

Investigation of Cytomegalovirus , Epstein-barr Virus and Adenovirus Infections After Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) in Pediatric Patients

Nazlı Nida KAYA¹, Serhan KÜPELİ², Gökhan ÖZTÜRK¹, İbrahim BAYRAM², Deniz ÖZDOĞRU SAĞDIÇ¹,
Gülşay SEZGİN², Fatih KÖKSAL¹, Fügen YARKIN¹

¹ Division of Virology, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana, Turkey

² Division of Pediatric Oncology, Department of Pediatric Health and Diseases, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana, Turkey

Introduction: Due to immunosuppressive treatments, viral infections, especially cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV) and adenovirus (ADV) infections, are the main causes of morbidity and mortality in patients receiving hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The aim of this study was to investigate the incidence of CMV, EBV and ADV infections in pediatric patients who had HSCT.

Materials and Methods: Between November 2015 and November 2016, 51 patients between the ages of 16 months and 16 years having had HSCT were included into the study. Forty-six patients received allogeneic and 5 patients autologous HSCT. Quantitative real-time PCR (Anatolia Geneworks, Turkey) test was used to detect CMV, EBV and ADV viral load in blood.

Results: Of the 46 patients receiving allogeneic HSCT as a single infection or co-infection, viral load above 1000 copies/mL was found in 26% (12) for CMV, in 26% (12) for EBV and 2.1% (1) for ADV. Twenty (43.4%) allogeneic HSCT recipients was put under preemptive therapy and viremia was cleared in 19. Only 1 (2.1%) patient died due to EBV infection and acute graft versus host disease (GVHD).

Conclusion: Early diagnosis by monitoring viral load and initiation of preemptive treatment is important to prevent complications of viral infections in patients after HSCT.

Key Words: Cytomegalovirus (CMV); Epstein-Barr virus (EBV); Adenovirus (ADV); Real-time PCR; Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

GİRİŞ

Hematopoietik kök hücre transplantasyonu (HKHT) yapılan hastalarda viral infeksiyonlar morbidite ve mortalitenin önemli sebeplerinden biridir. Viral infeksiyonların çoğu asemptomatik veya subklinik belirtilerle ortaya çıkmasına rağmen, bağışıklık sistemi baskılanmış alıcılarda fatal komplikasyonlarla sonuçlanabilir. Herpesvirüsler gibi latent virüslerin reaktivasyonu allojenik HKHT yapılan hastalarda immünsüpresif tedavi sonrasında sıklıkla görülür. Viral hastalıkların tedavisi için etkili ilaçların eksikliği dikkate alındığında, viral infeksiyonlardan korunma son derece önemlidir. Preemptif tedavi dahil olmak üzere profilaktik stratejilerin uygulanması, viral infeksiyonların ve hastalıkların gelişmesini azaltır^[1,2]. Sitomegalovirüs (CMV) ile primer infeksiyon genellikle çocukluk döneminde meydana gelir ve %50-90'ında seropozitiflik görülür. İlk infeksiyon sonrasında virüs lenfositlerde, monositlerde ve dendritik hücrelerde latent kalır. Allojenik HKHT alıcılarında CMV

infeksiyonu asemptomatik infeksiyondan pnömoni, hepatit, gastroenterit, retinit ve ensefalite değişen çeşitli hastalıklarla ilişkilidir^[1,3,4]. Yine herpesvirüs ailesinin üyesi olan Epstein-Barr virüs (EBV) popülasyonun %90'dan fazlasını infekte eden yaygın bir virüstür. Primer infeksiyondan sonra EBV, B lenfositlerinde latent kalır. Primer EBV infeksiyonu veya reaktivasyonu genellikle immün kompetan kişilerde asemptomatik infeksiyon veya infeksiyöz mononükleozu indükler. Ancak HKHT yapılan hastalarda EBV ateş, transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalık [post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD)], pnömoni, ensefalit ve miyelit gibi hastalıklardan sorumludur. Allojenik HKHT alıcılarında PTLD nadir, ancak iyatrojenik immünsüpresyonun sıklıkla ölümcül bir komplikasyonudur. PTLD, lenfoid veya plazmositik hücrelerin neoplastik proliferasyonundan kaynaklanmaktadır^[5]. PTLD insidansı genellikle %2'den az olup, T hücre depleksyonu yapılan greft, anti-timosit globulin (ATG) kullanımı, akraba olmayan donör, HLA uyumsuzluğu, akut veya kronik greft versus

host hastalığı (GVHH) ve CMV infeksiyonu gibi risk faktörlerine bağlı olarak %10-20'ye y kseklikir^[6,7].

Allojenik HKHT alıcılarında önemi olan adenovirüs (ADV) pediatrik popülasyonda endemik olup, 1-5 yaş arası çocukların %80'i bir veya daha fazla ADV serotipine karşı seropozitifdir. Çocuklarda solunum yolu infeksiyonlarının %2-7'sinden, bebeklerde ve çocuklarda viral pnömoni ve bronşiyolit olgularının %5-11'inden ADV sorumludur. ADV tonsiller, adenoid ve bağırsakta latent kalır. Bağışıklığı baskılanmış hastalar, özellikle hücresel immünitenin zayıfladığı allojenik transplantasyon yapılan çocuklar duyarlıdır ve ADV letal organ hastalığına veya sistemik hastalığa sebep olur. Genellikle transplantasyondan sonra ilk  c ayda gelişen adenovirüs hastalıkları, pnömoni, hepatit, gastroenterit, ensefalit, miyokardit, nefrit, kolit, hemorajik sistit ve coklu organ tutulumudur^[8,9].

Bu çalışmanın amacı HKHT yapılan pediatrik hastalarda CMV, EBV ve ADV infeksiyonlarının insidansının araştırılmasıdır.

MATERYAL ve METOD

Çalışmaya, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Kasım 2015-Kasım 2016 tarihleri arasında HKHT yapılan yaşları 16 ay ile 16 yıl arasında (ortalama 6.9 yıl) değişen toplam 51  ocuk hasta dahil edilmiştir. Hasta ebeveynleri işlem öncesi bilgilendirilmiş ve aydınlatılmış onam alınmıştır. Hastalardan nakilden önceki hafta içinde bir kez ve nakil sonrası ilk  c ayda haftalık, sonrasında ise bir yıla kadar ayda bir kan örnekleri alındı. Kan  rneklelerinden santifüj işlemiyle plazma kısmı ayrıldı. Plazma  rneklelerinden DNA eldesi için yapılan ekstraksiyon işleminde Magnesia Viral Nucleic Acid Extraction Kit EP (Anatolia Genetworks, Türkiye) kullanıldı. CMV, EBV ve ADV viral yükünün kanda tespiti için kantitatif real-time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (Anatolia Genetworks, Türkiye) testleri kullanıldı. Her bir hasta örneğinden CMV DNA'nın tespiti için 23.8  L master miks ve 0.2  L internal kontrol (IC)'den oluşan karışıma DNA ekstraktından 16  L eklendi. Üretici firmanın protokolüne uyularak CMV DNA'nın amplifikasyonu 95 C'de 14 dakika 30 saniye ilk denatürasyon ve ardından, 97 C'de 30 saniye denatürasyon ve 53 C'de 90 saniye bağ-

lanma ve ekstansiyon olmak üzere 50 döngüde yapıldı. EBV DNA'nın tespiti için 12.5  L PCR miks, 1.9  L detection miks1, 0.5  L detection miks2 ve 0.1  L IC'den oluşan karışıma DNA ekstraktından 10  L, ADV DNA tespiti için ise 14.8  L master miks ve 0.2  L IC karışımına 10  L DNA ekstraktından eklendi. EBV ve ADV amplifikasyonunda 95 C'de 14 dakika 30 saniye ilk denatürasyon ve 97 C'de 30 saniye, 53 C'de 90 saniye 72 C'de 15 saniye 50 döngü olmak üzere program kuruldu. Montania 4896 real-time PCR cihazında amplifikasyon işlemi gerçekleştirildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların 20'si kız, 31'i erkekti. Hastaların 46'sına allojenik, beşine otolog HKHT yapılmıştır. Kök hücre kaynağı olarak 39 hastaya kemik iliği, 11 hastaya periferik kan hücresi, bir hastaya ise hem kordon kanı hem kemik iliği nakledilmiştir. Allojenik HKHT yapılan hastaların 44' ne uyumlu akraba donörden, ikisine ise uyumlu akraba dışı donörden nakil yapılmıştır. Nakil yapılan 46 hastanın don rleriyle arasında 9/10, 10/10 olmak üzere HLA uyumu vardı. Hastaların %71 (36/51)'ine miyeloablatif rejim verilirken, %29 (15/51)'una yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejim verilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Hastaların demografik bilgileri

Hasta cinsiyeti	Say	%
Erkek	31	61
Kız	20	39
Transplant tipi		
Allojenik	46	90
Otolog	5	10
Kök hücre kaynağı		
Kemik iliği	39	76
Periferik kan kök hücreleri	11	22
Kordon kanı + kemik iliği	1	2
Donör tipi		
HLA uyumlu akraba	44	96
HLA uyumlu akraba dışı	2	4
Hazırlama rejimi		
Miyeloablatif rejim	36	71
Yoğunluğu azaltılmış rejim	15	29

Olguların 18'inde talasemi majör, dokuzunda Fankoni aplastik anemisi (FAA), dördünde nöroblastom, üçünde ağır kombine immünyetmezlik sendromu (SCID), üçünde akut lenfoblastik lenfoma (ALL), ikisinde akut miyeloid lösemi (AML), ikisinde orak hücreli anemi, ikisinde non-Hodgkin lenfoma (NHL), birinde Hodgkin lenfoma (HL), birinde kronik granüloematöz hastalık (KGH), birinde hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH), birinde Diamond Blackfan anemisi, birinde Ewing sarkom, birinde miyelodisplastik sendrom (MDS), birinde T hücreli lenfoma, birinde de aplastik anemi tanısı vardı (Tablo 2).

HKHT yapılan tüm hastaların %59 (30/51)'unda CMV DNA pozitifliği tespit edilmiştir. Allojenik HKHT yapılan hastalarda bu oran %61 (28/46) iken otolog nakil yapılanlarda oran %40 (2/5)'tir. EBV DNA, HKHT uygulanan tüm hastaların %37 (19/51)'sinde pozitif iken, allojenik nakil yapılan hastaların %39 (18/46)'unda, otolog nakil yapılan hastaların da %20 (1/5)'sinde pozitifdir. ADV DNA pozitifliği allojenik nakil yapılan hastalarda %6.5 (3/46) oranında tespit edilmiştir. Otolog HKHT yapılan hastalarda ise ADV DNA pozitifliği gözlenmemiştir.

Preemptif tedavi için 1000 kopya/mL olarak kabul edilen viral DNA yük değeri otolog nakil yapılan hastaların hiçbirinde tespit edilmemiştir. Allojenik HKHT yapılan 46 hastada tekli infeksiyon veya koinfeksiyon olmak üzere hastaların 12 (%26)'sinde CMV, 12 (%26)'sinde EBV ve 1 (%2.1)'inde ADV DNA viral yükü 1000 kopya/mL'nin üstünde saptanmıştır. Bu hastaların yedisinde sadece CMV, sekizinde sadece EBV infeksiyonu saptanmış olup dördünde CMV ve EBV, birinde de CMV ve ADV koinfeksiyonu tespit edilmiştir. Böylece toplam 20 (%43.4) allojenik HKHT alıcısına preemptif tedavi uygulanmıştır. Nakil hazırlığında bu 20 hastanın 12 (%60)'sine miyeloblastif tedavi rejimi ve 8 (%40)'ine de yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimi uygulanmıştır.

Viral yükü 1000 kopya/mL'nin üstünde olan yedi CMV DNA pozitif olgunun 5 (%71.4)'i ilk 100 günde (7-10. hafta), 2 (%28.6)'si ise 100 gün sonrası (4-10. ay), sekiz EBV DNA pozitif hastanın 6 (%75)'sı ilk 100 gün (2-11. hafta), 2 (%25)'si ise 100 günden sonra (6-10. ay) tespit edilmiştir. Koinfeksiyonu olan beş hastanın 3 (%60)'ünde CMV infeksiyonu (5-9. hafta) geliştikten sonra EBV infeksiyonu (9. hafta-10. ay) gelişirken, diğer iki hastada ise koinfeksiyon (CMV

Tablo 2. Hematopoietik kök hücre transplantasyonu uygulanan hastaların klinik tanıları

Tanı	Sayı	%
Talasemi majör	18	35
Fanconi aplastik anemi (FAA)	9	17
Multi relaps nöroblastom	4	8
Ağır kombine immünyetmezlik (SCID)	3	6
Akut lenfoblastik lösemi (ALL)	3	6
Akut miyeloid lösemi (AML)	2	4
Orak hücreli anemi	2	4
Non-Hodgkin lenfoma (NHL)	2	4
Hodgkin lenfoma (HL)	1	2
Kronik granüloematöz hastalık (KGH)	1	2
Hemofagositik lenfohistiyositoz (HLH)	1	2
Diamond blackfan anemisi	1	2
Ewing sarkom	1	2
Miyelodisplastik sendrom (MDS)	1	2
T hücreli lenfoma	1	2
Aplastik anemi	1	2

ve EBV koinfeksiyonu 6. haftada, CMV ve ADV koinfeksiyonu 7. ayda) eř zamanlı gelişmiştir.

Toplamda allojenik nakil yapılan 46 hastanın 42'sinde alıcı ve donörün nakil  ncesi CMV IgG'si seropozitif, bu hastaların 12 (%28.5)'sinde nakilden sonra CMV DNA viral yükü 1000 kopya/mL olarak saptanmıştır. CMV IgG'si allojenik nakil öncesi seronegatif olan  c hastanın ikisinin don r n n CMV IgG'si seropozitif, birinin ise CMV IgG'si seronegatif. Donör serolojisi negatif olan hastada nakilden sonra CMV DNA pozitifliği saptanmadı. Donör serolojisi pozitif olan iki hastadan birinde en yüksek CMV DNA viral yükü 465 kopya/mL (< 1000 kopya/mL) saptanırken, diğer hastada nakilden sonra CMV DNA pozitifliği olmamıştır. Allojenik nakil yapılan toplam 46 hastanın 18'inde alıcı ve donörün EBV IgG'si seropozitif, bu hastaların 8 (%44.4)'inde ve alıcı seropozitif donörü seronegatif olan 11 hastanın 2 (%18.1)'sinde olmak üzere toplam 29 hastanın 10 (%34.4)'unda EBV DNA viral yükü > 1000 kopya/mL'nin üstünde tespit edilmiştir. Allojenik nakil yapılan 46 hastanın 17'sinin ise EBV IgG'si seronegatif ve bu seronegatif hastaların da ikisinde EBV DNA viral yükü > 1000 kopya/mL'nin üstünde saptanmıştır. Bu iki hastanın 1 (%12.5; 1/8)'inin vericisi seropozitifken, diğerinin ki (%11.1; 1/9) seronegatif (Tablo 3).

Allojenik HKHT yapılan 46 hastanın 4 (%8.7)'ünde nakil öncesi viral infeksiyon tespit edilmiş olup ikisinde CMV DNA, birinde EBV DNA ve birinde de hem CMV DNA hem EBV

DNA pozitif. Hastaların hiçbirinde nakil  ncesi ADV DNA pozitifliği görülmemiştir. Nakil  ncesi hem CMV DNA hem de EBV DNA pozitif olan bir hastada viral yükler sırasıyla 222 kopya/mL ve 254 kopya/mL olup nakil sonrası CMV DNA pozitifliği olmazken, EBV DNA viral yükü ikinci haftada 5.9×10^3 kopya/mL'ye yükselmiş beşinci haftada da EBV infeksiyonu ve akut GVHH sebebiyle kaybedilmiştir. Nakil  ncesi sadece CMV DNA'sı pozitif ve 266 kopya/mL olan hastada ise nakilden sonraki haftalarda da CMV DNA viral yükü pozitif saptanmıştır. Bu hastada CMV DNA viral yükü yedinci ayda 7.7×10^3 kopya/mL'ye yükselmiş ve bu ayda eř zamanlı ADV DNA viral yükü 2.8×10^6 kopya/mL olarak tespit edilmiş olup koinfeksiyon gelişmiştir. Nakil  ncesi sadece CMV DNA'sı pozitif ve 5 kopya/mL olan diğer hastada, nakil sonrası da CMV DNA pozitifliği saptanmış olup en yüksek viral yük değeri dördüncü ayda 1.5×10^4 kopya/mL olarak bulunmuştur. Nakil  ncesi yine sadece EBV DNA viral yükü pozitif ve 1.9×10^3 kopya/mL olan hastaya nakil öncesi preemtif tedavi uygulanmasıyla viral yükte d şuş olmuş, nakilden sonra EBV DNA viral yükü sadece bir kez ve altıncı ayda 351 kopya/mL (< 1000 kopya/mL) olarak tespit edilmiştir.

Miyeloablative ve yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimi tedavisi alanlarda CMV viral yükü sırasıyla $32-8.4 \times 10^7$ kopya/mL ve $72-7.7 \times 10^7$ kopya/mL saptanırken, EBV viral yükü de sırasıyla $194-1 \times 10^4$ kopya/mL ve $97-1 \times 10^4$ kopya/mL

Tablo 3. Hematopoyetik kök hücre transplantasyonu (HKHT) yapılan hastaların nakil öncesi serolojisi

Allojenik HKHT grubunda CMV serolojik durumu (n= 46)	Sayı	%	CMV DNA > 1000 kopya/mL	
Alıcı CMV IgG pozitif/Verici CMV IgG pozitif	42	91	12	%28.5
Alıcı CMV IgG pozitif/Verici CMV IgG negatif	1	2	-	-
Alıcı CMV IgG negatif/Verici CMV IgG negatif	1	2	-	-
Alıcı CMV IgG negatif/Verici CMV IgG pozitif	2	5	-	-
Allojenik HKHT grubunda EBV serolojik durumu (n= 46)	EBV DNA > 1000 kopya/mL			
Alıcı EBV IgG pozitif/Verici EBV IgG pozitif	18	39	7	%38.8
Alıcı EBV IgG pozitif/Verici EBV IgG negatif	11	24	3	%27.2
Alıcı EBV IgG negatif/Verici EBV IgG negatif	9	20	1	%11.1
Alıcı EBV IgG negatif/Verici EBV IgG pozitif	8	17	1	%12.5

arasında olup CMV ve EBV DNA viral yük pik değerleri iki tedavi rejimini alan hasta grubunda da benzer görüldü. ADV viral yükü miyeloablatif tedavi alan hastada 2.8×10^6 kopya/mL ve yoğunluğu azaltılmış tedavi alan hastalarda 700-780 kopya/mL olarak daha düşük bulunmuştur. Tek veya koinfeksiyon şeklinde DNA viral yük 1000 kopya/mL'nin üstünde olan 12 CMV hastasının 6 (%50)'sı miyeloablatif, 6 (%50)'sı yoğunluğu azaltılmış rejim ve 12 EBV hastasının 8 (%67)'i miyeloablatif, 4 (%33)'ü yoğunluğu azaltılmış rejim almaktaydı. Ayrıca çalışma grubundaki ADV DNA pozitif (> 1000 kopya/mL) olan sadece bir hasta tespit edilmiş olup bu hastaya miyeloablatif hazırlama rejimi uygulanmıştır.

Allojenik HKHT yapılan 46 hastanın 15'inin hazırlama rejiminde ATG vardı ve bu hastaların 8 (%53.3; 8/15)'inde viral DNA yükü 1000 kopya/mL'nin üstünde olup hastaların 3 (%37.5)'ünde sadece CMV, 2 (%25)'sinde sadece EBV ve 3 (%37.5)'ünde hem CMV hem EBV infeksiyonu gelişti. ATG tedavisi almayan 31 hastanın ise 12 (%38.7; 12/31)'sinde viral infeksiyon saptandı.

Allojenik HKHT yapılan 46 hasta GVHH profilaksisi için siklosporin ve metotreksat tedavisi almıştır. Hastaların tamamına 90 gün asiklovir tedavisi verilmiştir. Ayrıca nakil yapılan 23 hastanın tedavisine intravenöz immünglobulin (IVIG) eklenmiştir. Viral yük değeri 1000 kopya/mL'nin üstünde saptanan CMV infeksiyonlu yedi hastanın birinde pnömoni, üçünde gastroenterit, birinde konjunktivit, ikisinde ateş ve akut GVHH gelişti. EBV infeksiyonlu sekiz hastanın beşinde ateş, ikisinde akut GVHH, birinde kronik GVHH, CMV ve ADV koinfeksiyonlu bir hastada gastroenterit, CMV ve EBV koinfeksiyonu olan dört hastanın birinde pnömoni, ikisinde gastroenterit ve birinde akut GVHH görüldü. Preemptif tedavi alan bu hastaların dokuzunun tedavisine IVIG eklenmiştir. IVIG kullanan hastaların dördünde tekli infeksiyon veya EBV ile koinfeksiyon şeklinde CMV DNA (> 1000 kopya/mL) pozitif. Bu dört hastanın ikisinde gastroenterit, birinde ateş ve akut GVHH, birinde konjunktivit gelişti, ancak hiçbirinde ciddi komplikasyon olan pnömoni gelişmedi. Tekli veya koinfeksiyon şeklinde CMV infeksiyonu saptanan 12 hastanın sekizi ise IVIG tedavisi almıyordu ve ikisinde pnömoni, dördünde gastroenterit, birinde

akut GVHH, birinde ateş ve akut GVHH gelişti. IVIG kullanan dokuz hastanın beşinde ise sadece EBV infeksiyonu vardı ve bu hastaların üçünde ateş, birinde ise akut GVHH, birinde ateş ve kronik GVHH görüldü. IVIG kullanan tekli EBV infeksiyonu (> 1000 kopya/mL) olan üç hastadan ikisinde ateş ve birinde de akut GVHH gözlemlendi.

Allojenik HKHT yapılan 46 hastanın 23'üne IVIG verildi ve bu hastaların 1 (%4.3)'inde akut GVHH, 2 (%8.6)'sinde kronik GVHH gelişirken, IVIG tedavisi almayan 23 hastanın 7 (%30.4)'sinde akut GVHH, 2 (%8.6)'sinde kronik GVHH olmak üzere hastaların toplam 12 (%26)'sinde GVHH tespit edildi. Bu 12 GVHH hastasının 6 (%50)'sında viral DNA (> 1000 kopya/mL) pozitifken, GVHH görülmeyen 34 hastanın 14 (%41.1)'ünde pozitif. IVIG tedavisi uygulanan hastaların 3 (%13)'ü, IVIG verilmeyen hastaların ise 5 (%21.7)'i kaybedilmiştir.

Allojenik HKHT yapılan 46 hastanın toplam 20 (%43.5)'sinde viral yük değerleri 1000 kopya/mL'nin üstünde idi ve hepsine preemptif tedavi uygulandı. Bu hastalardan sadece 1 (%5)'i EBV infeksiyonu ve akut GVHH sebebiyle kaybedildi. Ayrıca preemptif tedaviyle vireminin temizlendiği iki hastanın biri akut GVHH sebebiyle, diğeri başka sebeplerle, viral infeksiyonun tespit edilmediği altı hastanın ikisi kronik GVHH, biri akut GVHH ve üçü de diğer sebeplerle olmak üzere çalışmamızda toplam 8 (%15.6; 8/51) hasta kaybedilmiştir.

TARTIŞMA

Çocuklarda allojenik HKHT'den sonra CMV, EBV ve ADV gibi viral infeksiyonlar yaygın görülen komplikasyonlardır. Allojenik HKHT alıcılarında CMV majör virüslerden biridir. CMV seropozitif alıcıların %45-65'inde reaktif olur ve bu hastaların %20-30'unda CMV hastalığı gelişir^[1-3]. CMV infeksiyonu tipik olarak, HKHT'den sonraki ilk 100 gün içinde görülür ve başlıca pnömoni ve gastrointestinal hastalığa yol açar. Ancak, profilaktik antiviral ilaçların kullanımıyla birlikte HKHT'den 100 gün sonrası geç dönemde artan sayıda infeksiyonlar görülmektedir ve CMV pnömoni oranı %50'den fazladır^[10]. Bu sebeple CMV infeksiyonunun erken tespiti için kantitatif real-time PCR testi gibi güvenilir ve duyarlı laboratuvar testlerinin kullanımı etkin preemptif tedavinin başlanmasına izin vererek transplant sonrası morbidite ve mor-

talitenin azalmasına katkıda bulunmuştur. İlk uygulanan preemptif tedavi en az iki hafta süren gan-siklovir ile tedavidir. Günümüzde CMV hastalığının insidansı oldukça düşük olup %5'ten azdır. Ancak tanı ve korunmadaki ilerlemelere rağmen CMV enfeksiyonu HKHT hastaları için halen önemli bir problem olarak kabul edilmektedir. HLA uyşmazlığı, akraba olmayan donör ve kordon kanı gibi hematopoetik kök hücreleri için alternatif kaynaklar ve GVHH standart profilaksisi amacıyla ATG kullanımı allojenik HKHT alıcılarında viral enfeksiyonlar için risk faktörleri kabul edilir^[1,10].

HKHT alıcılarında görülen diğer bir herpesvirüs EBV ise transplantasyondan sonra %14-65'inde reaktif olur^[11]. Bir çalışmada allojenik HKHT alıcılarında EBV hastalığının  c yıllık kümülatif insidansı %15.6 olup PTLD insidansı %9.9 olarak bildirilmiştir^[11]. PTLD, EBV ile ilişkili en ciddi komplikasyonlardan biridir ve erken tedavi edilmezse HKHT sonrasında PTLD için mortalite oranı %90'a kadar y ksektir^[12]. PCR ile EBV DNA'nın izlenmesi ve EBV ile infekte B hücrelerini temizlemek için anti-CD20 monoklonal antikorlu rituksimab ile preemptif tedavi EBV hastalığının gelişmesini sınırlamıştır. Preemptif tedavi için tercih edilen ilk olarak rituksimab, ardından da immünsüpresyonun azaltılmasıdır^[1,12].

Allojenik HKHT alıcılarında ADV önemli bir patojen olarak giderek daha fazla tanınmaktadır. ADV enfeksiyonu latent virüsün reaktivasyonu veya toplumdaki kazanılmasıyla olur. HKHT alıcılarında ADV enfeksiyonu insidansı %5 ile %32 arasında bildirilmiştir^[13]. Çocuklarda ADV özellikle pnömoni ve hepatite sebep olur ve mortalite oranı %10-80'e kadar y ksektir^[14]. Kanda CMV, ADV ve EBV viral yükleri yükseldiğinde preemptif tedavi olarak antiviral ilaç tedavisi ve immünsüpresyonun azaltılması uygulanır. Preemptif tedaviye başlamada CMV, ADV ve EBV için eşik viral yük düzeyi genellikle > 1000 kopya/mL'nin üstünde olarak bildirilmiştir^[8,9,15-17]. Prospektif izleme ve ilaç tedavileri ile erken girişim yapılmasına rağmen, viral hastalık allojenik HKHT'den sonra çocuklarda mortaliteyi etkileyen en önemli faktör olmaya devam etmektedir.

Allojenik HKHT hastalarında viral enfeksiyonların araştırıldığı çalışmalardan Paris ve arkadaşları allojenik HKHT yapılan 97  ocuk hastada CMV

enfeksiyonu insidansını %26.8 olarak saptarlarken, otolog nakil yapılan hastalarda enfeksiyon tespit etmemişlerdir^[18]. CMV enfeksiyonu açısından alıcı CMV seropozitifliğini, ATG kullanımını, akut ve kronik GVHH varlığını risk faktörü olarak bildirmişlerdir. Goldstein ve arkadaşları HKHT yapılan 109  ocuk hastada CMV enfeksiyonu insidansını %21 olarak tespit etmişlerdir^[19]. Ayrıca IVIG kullanan ve kullanmayan hastalarda CMV enfeksiyonu oranlarının sırasıyla %13.4 ve %44.4 olduğunu belirlemişlerdir. Lilleri ve arkadaşları 178 allojenik HKHT alıcısında CMV viremisini %34, buna karşılık CMV antijenemisini %42 oranında daha yüksektir tespit ederek kantitatif real-time PCR testinin uygulanmasının gereksiz antiviral tedaviyi önleyeceğini bildirmişlerdir^[20]. Wu ve arkadaşlarının çalışmasında HKHT uygulanan 57  ocuk hastadan %32 (18 hasta)'sinde CMV viremisi gelişmiştir ve bu olguların %89 (16/18)'unda ilk 100 günde enfeksiyon ortaya çıkmıştır^[21]. Hiwarkar ve arkadaşlarının araştırmasında allojenik HKHT yapılan 291  ocuk hastanın %16'sında CMV, %15'inde ADV ve %11'inde EBV enfeksiyonu gelişmiştir^[22]. Gomes ve arkadaşları 98 allojenik HKHT uygulanan hastada sırasıyla CMV ve EBV enfeksiyonu insidansını %44 ve %3 olarak saptamışlardır^[23]. Gequelin ve arkadaşları 51 allojenik HKHT alıcısında %29.4 EBV enfeksiyonu tespit etmişlerdir^[24]. Bordon ve arkadaşları allojenik HKHT yapılan 80  ocuk hastada EBV enfeksiyonu insidansını %32 olarak ve en yüksektir oranında %30 ile alıcı/donör pozitif grupta olduğunu tespit etmişlerdir^[25]. Kampmann ve arkadaşları allojenik HKHT uygulanan 155  ocuk hastada ADV insidansını %17, mortalitesini de %19 olarak bulmuşlardır^[26].

Çalışmamızda allojenik HKHT yapılan 46 hastanın tekli enfeksiyon veya koinfeksiyon şeklinde %26'sında CMV DNA, %26'sında EBV DNA ve %2.1'inde ADV DNA viral yükü 1000 kopya/mL'nin üstünde olup, toplam 20 (%43.4) hastaya preemptif tedavi uygulanmıştır. Tekli CMV enfeksiyonu olan olguların %71.4'  ve tekli EBV enfeksiyonu olanların da %75'i ilk 100 günde görülürken, sırasıyla %28.6'sı ve %25'i 100 gün sonra tespit edilmiştir. Tekli veya koinfeksiyon şeklinde CMV DNA viral yükü 1000 kopya/mL'nin üstünde olan 12 hastanın hepsinde (%28.5; 12/42) alıcı/donör CMV IgG seropozitif bulunmuştur (Tablo 3). Yine

tekli veya koinfeksiyon şeklinde EBV infeksiyonu alıcı/donör EBV IgG seropozitif olan grupta 8 (%44.4) olguda saptanmış olup diğer gruplara göre (%18.1, %12.5, %11.1) daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3). Böylece alıcı ve donördeki CMV ve EBV seropozitifliği viral reaktivasyon için risk faktörü olarak belirlenmiştir. Ayrıca nakil öncesi CMV ve/veya EBV DNA pozitifliği < 1000 kopya/mL'nin altında olan üç hastanın hepsinde nakil sonrası viral yükler > 1000 kopya/mL'nin üstüne bulunurken, bir hasta kaybedilmiş olup nakil öncesi viral DNA pozitifliği yine risk faktörü olarak görülmüştür. Buna karşılık bir hastada ise nakil öncesi viral DNA yükü > 1000 kopya/mL'nin üstünde olduğu için preemptif tedavi uygulanmış ve sonrasında EBV DNA viral yükü düşmüştür. Çalışma grubumuzda miyeloablative ve yoğunluğu azaltılmış hazırlama rejimi uygulanmış hastalarda CMV DNA (sırasıyla $32-8.4 \times 10^7$ kopya/mL ve $72-7.7 \times 10^7$ kopya/mL) ve EBV DNA (sırasıyla $194-1 \times 10^4$ kopya/mL ve $97-1 \times 10^4$ kopya/mL) yükleri benzer bulunmuştur. Ancak ADV viral yükü miyeloablative tedavi alan hastada 2.8×10^6 kopya/mL iken yoğunluğu azaltılmış tedavi alan hastalarda 700-780 kopya/mL olarak daha düşük bulunmuştur. CMV DNA pozitif (> 1000 kopya/mL) olan 12 hastanın %50'si miyeloablative, %50'si yoğunluğu azaltılmış tedavi rejimi almış olup hazırlama rejiminin CMV DNA pozitifliği için önemli bir risk faktörü olmadığı görülmüştür. EBV DNA pozitif 12 hastanın ise çoğuna %67 oranla miyeloablative hazırlama rejimi uygulanmıştır. Hazırlık rejiminde ATG kullanan 15 hastanın %53.3'ünde buna karşılık ATG kullanmayan 31 hastanın %38.7'sinde daha düşük oranla viral DNA yükü > 1000 kopya/mL'nin üstünde bulunması ATG kullanımının ciddi viral infeksiyon riskini artırabileceğini göstermektedir. Tekli infeksiyon veya koinfeksiyon şeklinde CMV DNA pozitif ve preemptif tedavi alan 12 hastanın IVIG verilen dördünde ciddi komplikasyon olan pnömoni gelişmezken diğer IVIG verilmeyen sekiz hastadan 2 (%25)'inde pnömoni gelişmesi IVIG tedavisinin pnömoniyi önlemede etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca IVIG tedavisi alan 23 hastanın %13 (3 olgu)'ünde, buna karşılık IVIG kullanmayan 23 hastanın %39.1 (9 olgu)'inde daha yüksek oranda akut/kronik GVHH gelişmiştir. Bu 12 GVHH hastasının %50 (6 olgu)'ünde

viral DNA (> 1000 kopya/mL) pozitifken, GVHH görülmeyen 34 hastanın %41.1 (14 olgu)'inde daha düşük oranla pozitif olması GVHH'nin viremi için risk faktörü olabileceğini göstermektedir.

Allojenik HKHT alıcısı 46 çocukta %26 oranında bulduğumuz CMV infeksiyonu insidansı Paris'in (%26.8) bulgusuna benzer, Hiwarkar (%16) ve Goldstein'in (%21) verilerinden biraz yüksektir, buna karşılık Gomes (%44), Lilleri (%34) ve Wu'nun (%32) bildirdiği oranlardan düşüktür^[18-23]. Bu çalışmada EBV infeksiyonu insidansı %26 bulunmuş olup literatürde bildirilen Bordon (%32) ve Gequelin'in (%29.4) bulgularına yakın, ancak Gomes (%3) ve Hiwarkar'ın (%11) bulunduğu oranlardan yüksektir^[22-25]. ADV infeksiyonu insidansı ise %2.1 olup yine Gequelin (%17) ve Hiwarkar'ın (%15) saptadığı oranlardan daha düşüktür^[22,24]. Ayrıca Paris ve arkadaşları da çalışmamızla uyumlu olarak otolog nakil yapılan hastalarda infeksiyon tespit etmemişler ve CMV infeksiyonu için alıcı CMV seropozitifliğini, ATG kullanımını, akut ve kronik GVHH varlığını risk faktörü olarak belirlemişlerdir^[18]. Yine Bordon ve arkadaşları da alıcı/donör EBV seropozitifliği durumunda hastalarda EBV infeksiyonu insidansını daha yüksek bulmuşlardır^[25]. Goldstein ve arkadaşları da IVIG kullanan hastalarda CMV infeksiyonu insidansının daha düşük olduğunu gözlemişlerdir^[19]. Wu ve arkadaşları ise CMV infeksiyonlarının %89'unun ilk 100 günde geliştiğini kaydetmiştir^[21]. Çalışmamızda ise bu oran %71.4 olarak daha düşük olup olguların %28.6'sının 100 gün sonrası tespit edilmesi profilaksinin uygulanmadığı geç dönemde de infeksiyonların arttığını göstermiştir ve bu sebeple olgular bir yıla kadar prospektif izlenmelidir.

Bu çalışmada 46 allojenik HKHT alıcısından CMV, EBV veya ADV viral yükü > 1000 kopya/mL'nin üstünde olan toplam 20 (%43.4) hastaya preemptif tedavi uygulanmış ve 19 hastada viremi temizlenmiştir. Sadece 1 (%2.1) hasta EBV infeksiyonu ve akut GVHH sebebiyle kaybedilmiştir. Sonuç olarak HKHT yapılan hastalarda viral yük izlenerek erken tanı konulması ve preemptif tedavinin başlanması viral infeksiyonlara bağlı oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi için önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Lin R, Liu Q. Diagnosis and treatment of viral diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol* 2013;17:94.
2. Rowe RG, Guo D, Lee M, Margossian S, London WB, Lehmann L. Cytomegalovirus infection in pediatric hematopoietic stem cell transplantation: risk factors for primary infection and cases of recurrent and late infection at a single center. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22:1275-83.
3. 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;20:1958-67.
4. Blyth E, Withers B, Clancy L, Gottlieb D. CMV-specific immune reconstitution following allogeneic stem cell transplantation. *Virulence* 2016;7:967-80.
5. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, Engelhard D, de la Camara R, Cordonnier C, et al; Sixth European Conference on Infections in Leukemia, a joint venture of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT-IDWP), the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the International Immunocompromised Host Society (ICHS) and the European Leukemia Net (ELN). Management of Epstein-Barr virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica* 2016;101:803-11.
6. Wu XL, Liu QF. Epstein-Barr virus-associated diseases in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol* 2012;5(Suppl 1):A8.
7. Rouce RH, Louis CU, Heslop HE. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease after hematopoietic stem cell transplant. *Curr Opin Hematol* 2014;21:476-81.
8. Wy Ip W, Qasim W. Management of adenovirus in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Adv Hematol* 2013;2013:176418.
9. van Tol MJ, Claas EC, Heemskerk B, Veltrop-Duits LA, de Brouwer CS, van Vreeswijk T, et al. Adenovirus infection in children after allogeneic stem cell transplantation: diagnosis, treatment and immunity. *Bone Marrow Transplant* 2005;35(Suppl 1):S73-6.
10. de la Cámara R. CMV in hematopoietic stem cell transplantation. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2016;8:e2016031.
11. Xuan L, Jiang X, Sun J, Zhang Y, Huang F, Fan Z, et al. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* 2013;96:560-6.
12. Aguayo-Hiraldo P, Arasaratnam R, Rouce RH. Recent advances in the risk factors, diagnosis and management of Epstein-Barr virus post-transplant lymphoproliferative disease. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2016;73:31-40.
13. Leen AM, Bollard CM, Myers GD, Rooney CM. Adenoviral infections in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:243-51.
14. Bil-Lula I, Ussowicz M, Rybka B, Wendycz-Domalewska D, Ryczan R, Gorczyńska E, et al. PCR diagnostics and monitoring of adenoviral infections in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Arch Virol* 2010;155:2007-15.
15. Halfon P, Berger P, Khiri H, Martineau A, Pénaranda G, Merlin M, et al. Algorithm based on CMV kinetics DNA viral load for preemptive therapy initiation after hematopoietic cell transplantation. *J Med Virol* 2011;83:490-5.
16. Greenfield HM, Gharib MI, Turner AJ, Guiver M, Carr T, Will AM, et al. The impact of monitoring Epstein-Barr virus PCR in paediatric bone marrow transplant patients: can it successfully predict outcome and guide intervention? *Pediatr Blood Cancer* 2006;47:200-5.
17. Weinstock DM, Ambrossi GG, Brennan C, Kiehn TE, Jakubowski A. Preemptive diagnosis and treatment of Epstein-Barr virus-associated post transplant lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant: an approach in development. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:539-46.
18. Paris C, Kopp K, King A, Santolaya ME, Zepeda AJ, Palma J. Cytomegalovirus infection in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation in Chile. *Pediatr Blood Cancer* 2009;53:453-8.
19. Goldstein G, Rutenberg TF, Mendelovich SL, Hutt D, Oikawa MT, Toren A, et al. The role of immunoglobulin prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in pediatric hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Pediatr Blood Cancer* 2017;64.
20. Lilleri D, Gerna G, Furione M, Bernardo ME, Giorgiani G, Telli S, et al. Use of a DNAemia cut-off for monitoring human cytomegalovirus infection reduces the number of preemptively treated children and young adults receiving hematopoietic stem cell transplantation compared with qualitative pp65 antigenemia. *Blood* 2007;110.
21. Wu JL, Ma HY, Lu CY, Chen JM, Lee PI, Jou ST, et al. Risk factors and outcomes of cytomegalovirus viremia in pediatric hematopoietic stem cell transplantation patients. *J Microbiol Immunol Infect* 2017;50:307-13.
22. Hiwarkar P, Gaspar HB, Gilmour K, Jagani M, Chiesa R, Bennett-Rees N, et al. Impact of viral reactivations in the era of preemptive antiviral drug therapy following allogeneic haematopoietic SCT in paediatric recipients. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:803-8.
23. Gomes de Oliveira PG, Ueda MY, Real JM, de Sá Moreira E, Rodrigues de Oliveira JS, Gonçalves MV, et al. Simultaneous Quantification of the 8 Human Herpesviruses in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplantation* 2016;100:1363-70.
24. Gequelin LCF, Rossa MCD, Riediger IN, Vidal LR, Brandão APD, Biondoç AW. Laboratory monitoring of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in patients submitted to allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Bras Cien Med Saúde* 2015;3.

25. Bordon V, Padalko E, Benoit Y, Dhooge C, Laureys G. Incidence, kinetics, and risk factors of Epstein-Barr virus viremia in pediatric patients after allogeneic stem cell transplantation. *PediatrTransplantation* 2012;16:144-50.
26. Kampmann B, Cubitt D, Walls T, Naik P, Depala M, Samarasinghe S, et al. Improved outcome for children with disseminated adenoviral infection following allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2005;130:595-603.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Uzm. Dr. Nazlı Nida KAYA

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji Bilim Dalı,
Adana-Türkiye

E-posta: nida_koc@hotmail.com