

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

İMMÜN SAĞLAM YOĞUN BAKIM HASTALARINDA
CYTOMEGALOVIRUS (CMV) VE EPSTEIN-BARR VİRÜS (EBV)
REAKTİVASYONUNUN İNCELENMESİ

Ertuğrul YAZICI
Tbp. Bnb.

TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıŐtır.

ANKARA
2015

T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**İMMÜN SAĞLAM YOĞUN BAKIM HASTALARINDA
CYTOMEGALOVIRUS (CMV) VE EPSTEIN-BARR VİRÜS (EBV)
REAKTİVASYONUNUN İNCELENMESİ**

Ertuğrul YAZICI
Tbp. Bnb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakóltesi'nin
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Programı İçin Öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıŐtır.

TEZ DANIŞMANI
Doç.Hv.Tbp. Alb. Ömer COŞKUN

ANKARA
2015

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına:

“İmmün sağlam yoğun bakım hastalarında Cytomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr virüs (EBV) reaktivasyonlarının incelenmesi ” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç. Hv.Tbp.Alb. Ömer COŞKUN
GATA Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD.

Üye : Prof.Tbp.Tuğg. Bülent A. BEŞİRBELLİOĞLU
GATA Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD.

Üye : Doç.Tbp.Alb. Hakan ERDEM
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Servisi

Üye : Prof.Dr. Hürrem BODUR
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji Servisi

ONAY:

Tbp. Bnb. Ertuğrul YAZICI'nın 22 Mayıs 2015 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Hayati BİLGİÇ
Prof. Tbp. Tümamiral
Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, GATA Etik Kurulu'nun 5 Mart 2013 gün ve 14 sayılı kararı gereği Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığında yapıldı.

Çalışmamda bana her türlü yardım ve desteği sağlayan ve eğitimim süresince bilgi ve becerimin artmasında değerli katkıları bulunan, başta Anabilim Dalı Başkanım Sayın Prof.Dr. Bülent Ahmet BEŞİRBELLİOĞLU ve tez danışmanım Doç.Dr. Ömer COŞKUN'a teşekkürü borç bilirim.

Eğitimim süresince değerli katkılarıyla emeği geçen değerli hocalarım Prof.Dr. Can Polat EYİGÜN, Doç.Dr. İsmail Yaşar AVCI, Doç.Dr. Hanefi Cem GÜL, Doç.Dr. Gürkan MERT, Doç.Dr. Ahmet KARAKAŞ, kliniğimiz uzmanları; Uzm.Dr. Yavuz ÇEKİLİ, Uzm.Dr. Handan İLHAN, Uzm.Dr. Cumhur ARTUK'a, uzmanlık öğrenciliğim süresince beraber çalıştığım Uzm.Dr. Emine GÜNAL, Uzm.Dr. Aybars BİLGETÜRK, Uzm.Dr. Murat AFYON, Uzm.Dr. Elif KÜÇÜKLER, Uzm.Dr. Ümit SAVAŞCI, Uzm.Dr. Kazım KIRATLI, Uzm.Dr. Serhat KEŞCİOĞLU, Uzm.Dr. Gonca FİDAN'a, uzmanlık öğrencisi arkadaşlarım, Dr. Demet EGE, Dr. Emre GÜVEN, Dr. Pınar Yürük ATASOY, Dr. Oktay DEMİRTAŞ, Dr. Cüneyt KURKUT ve Dr. Mutahher AKÇAER'e, kliniğimiz hemşireleri ve personeline,

Çalışmamın her aşamasında desteğini, bilgilerini ve tecrübesini hiç esirgemeyen Tıbbi Mikrobiyoloji A.D'nden Prof.Dr. Ayhan KUBAR, Doç. Dr.Kenan ŞENER ve Uzm.Dr. Fatih ŞAHİNER'e, değerli katkılarından ötürü tüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı personeline,

Yoğun Bakım Bilimdalı başkanı Prof.Dr. Levent YAMANEL ve bilimdalının hemşireleri ve personeline,

Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalından Uzm.Dr. Muhammed TEKİN ve Anabilim Dalının hemşireleri ve personeline,

Tezimin değerlendirilmesinde büyük katkısı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalından Prof.Dr. Selim KILIÇ'a,

Tez çalışmam süresince istemeyerek de olsa zaman zaman ihmal ettiğim sevgili eşim Müşerref ile çocuklarım Selin ve Şeref Tuğrul'a ve hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen tüm aileme teşekkür ederim.

ÖZET

İmmün sağlam yoğun bakım hastalarında Cytomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr virüs (EBV) reaktivasyonlarının değerlendirilmesi

Bu çalışma ile yoğun bakımlarda takip edilen immün sağlam hastalarda Cytomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr virüs (EBV) reaktivasyonu ile buna neden olabilecek risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışma, GATA Eğitim Hastanesi Dahiliye Yoğun Bakım BD ve Anestezi ve Reanimasyon AD'da yatarak tedavi gören immün sağlam, 18 yaş ve üzeri 60 yoğun bakım hastasında yapıldı. Hastalar yatışlarından bir hafta sonra değerlendirmeye alındı. Yatışları boyunca haftada bir olmak üzere en fazla 4 hafta izlendi. Alınan örnekler Mikrobiyoloji laboratuvarında Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi ile çalışıldı. Cytomegalovirus reaktivasyonu %8,3, Epstein-Barr virüs reaktivasyonu ise %23,3 olarak bulundu. Viral reaktivasyon olan hastalar ile olmayanlar arasında sağ kalım açısından anlamlı fark saptanamadı. CMV reaktivasyonu olan hastalarda yüksek duyarlılıklı C reaktif protein (hsCRP) median değerleri reaktivasyon olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.037$). EBV reaktivasyonu oranı, mekanik ventilasyon uygulaması olan hastalarda olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p=0.023$). EBV reaktivasyonu oranı, yüksek ateşi olan hastalarda, olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.035$). Benzer çalışmalar ülkemizde oldukça nadirdir. Reaktivasyon sıklığını daha iyi değerlendirebilmek ve risk faktörlerini belirleyebilmek için özel hasta gruplarında, daha çok sayıda hasta ile çalışmalar yapılmasının uygun olacağı değerlendirilmektedir. Sonuç olarak; ateşi olan, spesifik bir belirti göstermeyen ve tedaviye cevap vermeyen yoğun bakım hastalarında EBV ve CMV reaktivasyonu akılda bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler : EBV, CMV, Reaktivasyon, İmmün sağlam

Yazar Adı : Tbp.Bnb. Ertuğrul YAZICI

Danışman : Doç.Hv.Tbp.Alb. Ömer COŞKUN

SUMMARY

Assessment of Cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr (EBV) virus reactivations in immunocompetent patients in intensive care unit

In this study, it was aimed to evaluate the reactivation of Cytomegalovirus (CMV) and Epstein-barr (EBV) viruses in immunocompetent patients followed-up in intensive care units and the risk factors that may cause to reactivation. The study has been carried out including 60 immunocompetent patients aged 18 years and older in GATA Hospital Internal Diseases Intensive Care Unit and Anesthesia Intensive Care Unit. Patients have been included in the study one week after their admission. During hospitalization, they have been monitored weekly thereafter until 4 weeks. Received samples have been analyzed with a Polymerize Chain Reaction method in Microbiological Laboratory. CMV and EBV reactivation rates was found as 8.3 % and 23.3 %, respectively. No significant difference was determined between patients with and without viral reactivation with respect to mortality. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) median values of patients with CMV reactivation were significantly higher than the patients without CMV reactivation. EBV reactivation was statistically higher in patients with mechanical ventilation compared to patients without mechanical ventilation ($p=0.023$). EBV reactivation in patients with high-grade fever was found statistically quite higher than the patients without fever ($p=0.035$). Similar studies are very uncommon in our country. There is a need of extended studies over specific patient groups with more amounts of patients to better assess the reactivation frequency and identify the risk factors. As a conclusion; EBV and CMV reactivation should be taken into consideration for intensive care unit patients with fever, without specific symptoms and unresponsive to the treatment.

Keywords : EBV, CMV, reactivation, immunocompetent

Author : Tbp. Bnb. Ertuğrul YAZICI

Counselor : Doç.Hv.Tbp.Alb. Ömer COŞKUN

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Etkenlerin Özellikleri	3
2.2.1. CMV Mikrobiyolojik Özellikleri	3
2.2.2. EBV Mikrobiyolojik Özellikleri	4
2.2.3. CMV Replikasyonu	4
2.2.4. EBV Replikasyonu	5
2.3. Patogenez	6
2.3.1. CMV Patogenezi	6
2.3.2. EBV Patogenezi	7
2.4. Epidemiyoloji	8
2.4.1. CMV Epidemiyolojisi	8
2.4.2. EBV Epidemiyolojisi	8
2.5. Klinik	9
2.5.1. CMV Kliniği	9
2.5.2. EBV Kliniği	13
2.6. Tanı.....	15
2.6.1. CMV Tanısı	15
2.6.2. EBV Tanısı	17

2.7. Tedavi	19
2.7.1. CMV Tedavisi	19
2.7.2. EBV Tedavisi	20
GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Çalışma grubu ve örneklerin toplanması	22
3.2. Kullanılan malzeme ve cihazlar	23
3.2.1. PZR ve diğer sarf malzemeleri	23
3.2.2. Cihaz ve ekipmanlar	23
3.3. Örneklerin hazırlanması ve viral DNA ekstraksiyonu	24
3.4. Real-time PZR testleri	25
3.5. Primer ve probler	26
3.6. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi (AJE) ile görüntülenmesi	27
3.7. İstatistiksel analizler	28
BULGULAR	29
4.1. Hastaların demografik ve epidemiyolojik özellikleri	29
4.2. Hastaların klinik ve laboratuvar özellikler	30
4.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonuçları	37
TARTIŞMA.....	38
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACV	:	Asiklovir
AJE	:	Agaroz jel elektroforezi
AIDS	:	Kazanılmış immün yetmezlik sendromu
BOS	:	Beyin omurilik sıvısı
CMV	:	Cytomegalovirüs
CRP	:	C-reaktif protein
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
EA	:	Early antijen
EBER	:	Epstein-Barr encoded RNA
EBNA	:	Epstein-Barr nükleer antijen
EBV	:	Epstein-Barr virüs
EM	:	Enfeksiyöz mononükleoz
GİS	:	Gastrointestinal sistem
GATA	:	Gülhane Askeri Tıp Akademisi
gP	:	Glikoprotein B
gH	:	Glikoprotein H
HSM	:	Hepatosplenomegali
hsCRP	:	Yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein
IFA	:	İndirek floresan antikor
IgG	:	İmmünglobulin G
IgM	:	İmmünglobulin M
IL-10	:	İnterlökin-10
KOAH	:	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LMP	:	Latent membran proteini
MA	:	Membran antijeni
NF-κB	:	Nükleer faktör kappa B
PZR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	:	Ribonükleik asit
SAPS II	:	Basitleştirilmiş akut fizyoloji skoru II

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Herpesvirüs viryon yapısı	3
3.1. Örnek bir PZR testi sonrası AJE görüntüsü	27
3.2. Klinik örneklerin işlenmesi ve PZR testleri	28
4.1. CMV reaktivasyonu olan ve olmayan hastaların median hsCRP değerleri	34
4.2. Ateş ve EBV reaktivasyonu ilişkisi	35
4.3. Mekanik ventilasyon ve EBV reaktivasyonu ilişkisi	36

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
2.1.	EBV latentlik tipleri	7
2.2.	CMV'ye bağlı klinik durumlar	10
2.3.	EBV ile ilgili hastalıklardaki serolojik profiller	19
2.4.	CMV tedavisinde kullanılan ilaçlar	20
3.1.	PZR karışımında yer alan maddeler ve konsantrasyonları	25
3.2.	Real-time PZR testlerinde kullanılan primer ve probalar	27
4.1.	Yoğun bakımda takip edilen hastaların tanıları	29
4.2.	Viral reaktivasyon tespit edilen hastaların yoğun bakıma yatış endikasyonlarına göre sayıları	30

GİRİŞ

Cytomegalovirüs (CMV) ve Epstein-Barr (EBV), toplumda yaşla birlikte yaygınlığı artan ve latent özellik gösteren virüslerdir. CMV; kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS), immün baskılayıcı tedavi, kök hücre ve solid organ transplantasyonu gibi durumlarda reaktif olarak birçok klinik tabloya neden olabilmektedir. EBV immün baskılanma durumlarında reaktif olarak birçok lenfoproliferatif hastalık ve bazı tümörlerin oluşumunda rol oynayabilmektedir. İmmün sağlam hastalarda her iki virüs kendini sınırlayabilen hastalıklara sebep olurken, immün sistemi baskılayabilecek çeşitli stres durumlarında reaktif olabilirler.

Yoğun bakıma yatış ve sonrasında uygulanan tedavi ve invaziv girişimler, yatış süresinin uzaması gibi durumlar immün sistemi baskılayabilmektedir. Ayrıca sepsis ve travma gibi durumlar inflamatuvar mediyatörlerin salınımını uyarak immün baskılanmaya neden olabilmektedir. Birçok faktörün etkisi ile oluşabilecek immün baskılanma sonucu EBV ve CMV reaktif olarak yoğun bakımda yatan hastalarda sağ kalımı olumsuz yönde etkileyebilirler. Yoğun bakımlarda yatarak açıklanamayan ateşi ve lenfomonositozu olan, uygulanan tedavilere cevap vermeyen immün sağlam hastalarda viral reaktivasyon göz önünde bulundurulmalıdır. Böylece hastalar gereksiz tanı ve tedavi işlemlerinden kurtulabilecek ve yatış süresi kısalabilecektir.

Çalışmamızda immün sağlam, 18 yaş üstü hastalar tanılarına bakılmaksızın yoğun bakıma kabul edilmesinden sonra 28 gün takip edilmiştir. Yatan hastalar haftalık kontrollerle EBV ve CMV reaktivasyonu açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca viral reaktivasyona sebep olabileceğini düşündüğümüz risk faktörleri ve bazı laboratuvar parametrelerinin reaktivasyonla ilişkisi araştırılmıştır. Yirmisekiz günlük takip sonunda oluşan viral reaktivasyonun sağ kalıma etki edip etmediği değerlendirilmiştir.

GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

CMV enfeksiyonundaki sitomegalik hücreler ilk olarak 1881 yılında Ribbet tarafından sifilitik bir yenidoğanın böbrek ve parotis bezinde gösterilmiş ve 1904 yılında Jesionek ve Kiolemenoglu tarafından tanımlanmıştır. Bu hücreler önce parazit lehine yorumlanmış ve başka bebeklerde de benzer hücreler bulunmuştur. Goodpasteur ve Tablot tarafından 1921 yılında, Von Glahn ve Pappenheimer tarafından 1925 yılında herpes zoster ve herpes genitalis lezyonlarında buna benzer hücreler görüldüğü ifade edilmiştir. Wyatt ve arkadaşları tarafından 1950 yılında peteşi, hepatosplenomegali (HSM) ve beyin kalsifikasyonu olan bir yenidoğanda sitomegalik hücreler gösterilmiş ve tablo "Yaygın sitomegalik inklüzyon hastalığı" olarak tanımlanmıştır. Fetterman tarafından 1952 yılında antenatal tarama için idrarda sitomegalik hücrelerin saptanması fikri ortaya atılmıştır. Virüs 1956 yılında Smith tarafından farede, 1965 yılında ise insan tükürük bezinde Smith, Weller ve Rowe'un liderlik ettiği üç bağımsız grup tarafından gösterilmiştir. CMV adı Weller tarafından enfekte hücrelerde meydana getirdiği değişiklikten dolayı verilmiştir (1, 2, 3). Ardından kompleman fiksasyon testi ile insanlarda yapılan taramada yaşın artmasına bağlı olarak prevalansın arttığı tespit edilmiştir. 1950'den sonra yapılan çalışmalarda konjenital CMV enfeksiyonu, CMV mononükleozu, solid organ alıcıları ve AIDS hastalarında CMV hastalığı gibi virüse ait birçok klinik durum tanımlanmıştır

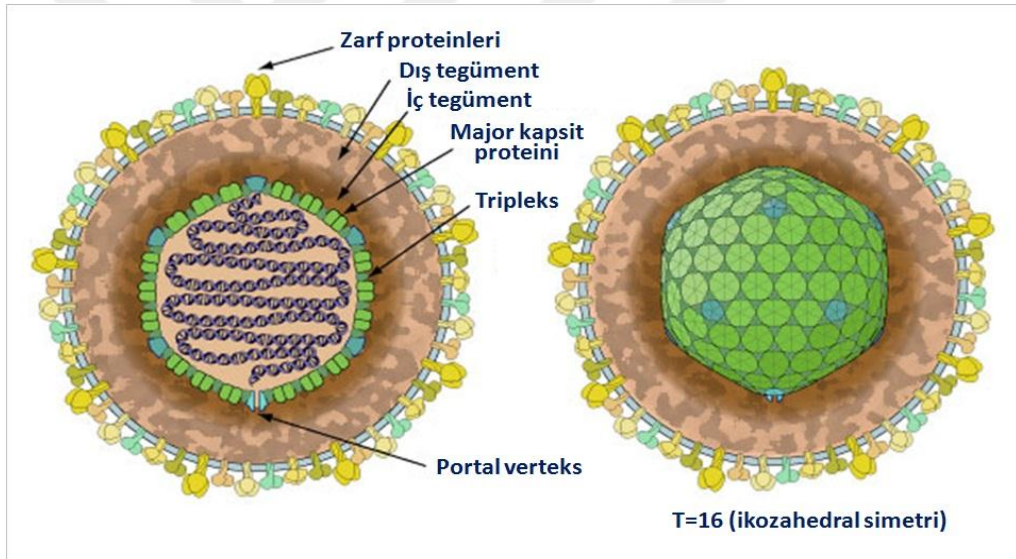
EBV kliniği ile ilgili ilk bilgiler 19. yüzyıl sonlarına dayanmaktadır. O dönemlerde servikal lenfadenopati ve ateşli farenjit olguları tarif edilmiştir. Sprunt ve Evans tarafından 1920 yılında bu tip olgularda lenfomonositoz tespit edilmiştir. Virüsle ilgili ilk bilgiler ise İngiliz cerrah Denis Burkitt'in Afrika'da yaptığı çalışmalara dayanır. Çene kemiği kaynaklı bir tümörün 1957 yılında araştırılması sonucu bunun bir lenfoma olduğu tespit edilmiştir. Alınan örneklerden elektron mikroskobu ile yapılan incelemede Epstein, Barr ve Achong tarafından bunun herpes benzeri bir virüs olduğu gösterilmiştir (4). Niederman ve McCollum tarafından 1968 yılında öğrencilerde yapılan bir

Çalışma ile EBV'nin Enfeksiyöz Mononükleoz (EM) etyolojisindeki rolü tanımlanmıştır (5).

2.2. Etkenlerin  zellikleri

2.2.1. CMV Mikrobiyolojik  zellikleri

CMV "*International Committee for Taxonomy of Viruses*" tarafından insan herpesvirüs ailesinin bir  yesi olarak kabul edilmiş ve insan herpesvirüs 5 (HHV-5) olarak tanımlanmıştır. En büyük genoma sahip insan herpesvir s  olup *Betaherpesvirinae* alt ailesinde yer alır. Diğ r insan herpesvir sleri olan 6 (HHV-6) ve 7 (HHV-7) ile olan benzerliğinden dolayı bu   virüs betaherpesvir sler olarak sınıflandırılmaktadır. Diğ r herpesvir slerden farklı olarak hem nükleer hemde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri oluştururlar.



şekil 2.1. Herpesvirüs viryon yapısı

CMV partikülü 120-200 nanometre çapındadır. Yaklaşık 200 kilobaz lineer çift iplikli deoksiribonükleik asit (DNA) içerir. Viral DNA yaklaşık 230-250 protein kodlar. DNA'yı çevreleyen ve 162 kapsomerden oluşan ikozahedral simetrik bir kapsidi vardır. Kapsitte bulunan majör protein yapısal özellik gösterirken, minör protein viral DNA ile birleşir. Kapsidi protein açısından zengin bir zar çevreler. Bu zarda fosforile olmuş 20 kadar protein mevcut olup bunların en önemlisi pp65'dir. Bu protein antijen testinde saptanan proteindir ve MHC-I sitotoksik T lenfositler için hedeftir. Ayrıca diğ r

zar proteinleri olan pp71, pp150, pp52 ve pp130 immunojenik olarak görev yapan proteinlerdir.

En dışta fosfolipitten oluşan kompleks yapıda bir zarf bulunur. Bu yapıda birçok glikoprotein bulunmasına rağmen n enemlileri glikoprotein B (gB) ve glikoprotein H (gH) dir. Virüsün hücreden hücreye geçişi ve füzyonunu sağlayan gB'ye karşı insanlarda enfeksiyon sırasında antikorlar oluşmaktadır. gB'nin antijenik determinantları AD-1 ve AD-2 olup antikorların çoğu AD-1'e karşı oluşmaktadır. Analizlerde AD-169 isimli laboratuvar suşu belirlenmiş olup, bu suşun diğerleri ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Farklı serotipler için yeterli kanıtlar yoktur. CMV ısı (56⁰C' de 30 dakika), eter (%20' lik solüsyonla iki saatte), ultraviyole, düşük pH ve lipid çözücüler ile inaktive olur. Vücut dışında yaşamaya karşı dayanıklı değildir (6).

2.2.2. EBV Mikrobiyolojik zellikleri

Herpesviridae ailesinin bir yesi olan EBV, insan Herpesvirüs 4 (HHV-4) olarak da bilinir. Gammaherpes virüs alt ailesinde lenfokriptovirs sınıfı içinde yer alır. Genel olarak gammaherpes virüsler lenfoid dokularda replike olurken bazen epitelyal hücreler ve fibroblastlarda litik replikasyon yapabilirler. Elektron mikroskopunda diğer herpesvirüsler gibi grnrlere. Lipidden zengin bir zarfa sahip olup, 162 kapsomerden oluşan ikozahedral bir simetriye sahiptir. EBV genomu 172 kilobaz çifti içeren çift sarmal DNA molekülünden oluşur (7).

Genomda arka arkaya tekrarlanan bölgeler bulunur ve bu bölgeler üzerinde EBV suşlarını ayırt etmeye yarayan özel bölgeler vardır (8). İnsanlarda EBV-1 ve EBV-2 olarak iki tipi belirlenmiş olup bu iki tipin genomlarında yaygın homoloji mevcuttur (9). Amerika ve Avrupa'da EBV-1 10 kat fazla iken, Afrika'da dağılım eşittir (10).

2.2.3. CMV Replikasyonu

CMV insanlarda epitel hücreleri, endotel hücreleri, sinir hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve makrofajlar gibi birçok farklı hücreyi enfekte edebilir (11). Replikasyon konak hücre çekirdeğinde gerçekleşir. Uzun bir replikasyon döngüsü vardır. CMV hücreye birçok reseptörü kullanarak tutunur. Tutunmada gH zarf proteini ile hücrede bulunan 92 Kda reseptörü

arasındaki etkileşim rol oynar. Virüs hücreye direk füzyon ile girer. Kapsidinden ayrıldıktan sonra viral DNA konak çekirdeğine ulaşır ve konak ribonükleik asit (RNA) polimeraz enzimi ile transkripsiyon gerçekleşir. Transkripsiyon en erken, erken ve geç olmak üzere toplam üç dönemde olur. En erken dönemde sentezlenen proteinler genellikle düzenleyici olarak görev yapmakta ve enfeksiyonun geç dönemine kadar salınmaktadır. Erken replikasyon döneminde viral DNA, geç replikasyon döneminde ise yapısal proteinlerin sentezi olur. Bu yapısal proteinlerden olan kapsid proteinleri viral DNA'yı sarmalar ve konak hücre zarından zarf oluşturur. Ardından virüs konak hücre zarından ekzositozla salınır (6)

2.2.4. EBV Replikasyonu

EBV için ana reseptör kompleman sisteminin bileşeni olan C3d'nin de reseptörü olan CD21'dir. Bu reseptör; insan B hücrelerinde, nazofarenks ve orofarenks epitel hücrelerinde bulunur. B hücrelerinde replike olan virüs T hücrelerinin etkisi ile latent enfeksiyona ya da B hücrelerinin uyarılması sonucu bu hücrelerin ölümsüzleşmesine neden olur. Glikoprotein 350/220 ile CD21 reseptörlerine bağlanma gerçekleşir. Produktif enfeksiyon meydana geldiğinde salınan proteinler serolojik olarak tanımlanmıştır. Bunlar early antijen (EA), viral kapsid antijeni (VCA) ve membran antijeni (MA) olup farklı karakteristik özelliklere sahiptir. EA'nın sitoplazmada görülen EA-R, sitoplazma ve nükleusta görülen EA-D tipleri mevcut olup görülmeleri litik faz göstergesidir. VCA geç salınan bir antijen olup virüs üretimi olan hücrelerde görülür. MA'lar zarf glikoproteinleri olup virüs üreten hücrelerde görülürler (12).

Produktif olmayan enfeksiyonlarda ise enfeksiyonun gelişmesi ve latentlik oluşması için bir takım gen ve proteinler görev alırlar. Bunlar Epstein-Barr nükleer antijenler (EBNA) 1, 2, 3A, 3B ve 3C; latent membran proteinleri (LMP) 1, 2 ve Epstein-Barr tarafından kodlanmış iki küçük RNA (EBER) molekülleridir. EBNA-1 viral replikasyonun devamı için gereklidir (13). EBNA-2 ise B lenfositlerin ölümsüzleştirilmesinde rol alır (14). LMP-1 invitro olarak B hücrelerinin EBV kaynaklı dönüşümü için gerekli olan aktivasyon belirteçlerini indükler (15). LMP-2 virüsle enfekte olmuş plazma membranında LMP-1 ile beraber bulunan zar proteinidir ve B lenfosit src ailesi tirozin kinazları için bir

substrattır (16, 17). Reseptör aracılı transmembran sinyal tirozin kinazların büyüme faktörü üzerindeki etkisi göz önüne alındığında bu etkileşimin hücre büyümesi üzerine önemli rolünün olduğu düşünülmektedir.

2.3. Patogenez

2.3.1. CMV Patogenezi

CMV birçok dokuyu tutabildiğinden yaygın bir enfeksiyon oluşturur. Oral, cinsel ve transplasental bulaşın ardından viremi gelişir ve organ tutulumu ile primer enfeksiyon oluşur. Normal konakta primer enfeksiyon tamamen asemptomatik geçirilebileceği gibi mononükleoz tablosuna veya komplikasyonlarla seyreden ciddi semptomatik tabloya neden olabilir. Nötralizan antikorlar tarafından viremik faz sonlandırıldıktan sonra virüs monosit ve CD34+ miyeloid progenitör hücrelerde latent olarak kalır. Seropozitiflik hayat boyu devam eder ve immün yetmezlik durumlarında reaktivasyon ve reenfeksiyon şeklinde sekonder enfeksiyon gelişebilir (18).

T hücreleri ve NK hücreleri CMV enfeksiyonunun kontrolünde ana role sahiptir. İmmün sağlam bireylerde reaktivasyon nadirdir. Virüs bazı genler ile immüniteden kaçmaya çalışır. Bu genler sayesinde HLA-Class-I moleküllerinin sentezi inhibe edilerek enfekte hücrelerden antijen sunumu engellenir. Böylece viral antijenler tanınamaz ve CD8+ T hücrelerinden kaçarlar.

CMV CD4+ T hücrelerdenden de kaçma mekanizması oluşturmuştur. CMV ile enfekte hücrelerde HLA-Class-II ekspresyonu bozulmuştur. Bu mekanizmalar sayesinde virüs immün sistem tarafından etkisiz hale getirilmeden latent olarak canlılığını sürdürebilmektedir.

Reaktivasyon multifaktöryel ve çok aşamalı bir süreçtir. En erken protein sentezi yapan bölgenin aktivasyonu CMV reaktivasyonunda ilk ve en önemli adım olarak görülmektedir. İnaktif nükleer faktör kappa B (NF-κB) içeren sekanslar bu bölgede bulunmaktadır. (19). NF-κB'nin çeşitli sinyal ve mediyatörler ile aktive edilmesinin CMV reaktivasyonuna neden olduğu kabul edilmektedir. Proinflamatuvar sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri, inflamatuvar enzimler ve sepsis esnasında salınan mediatörlerin etkisi ile NF-κB aktivasyonu ile CMV aktive olur. Klinik olarak ise; yanık, cerrahi,

travma, çoklu organ yetmezliği, kan transfüzyonu ile organ ve kemik iliği transplantasyonlarında CMV reaktivasyonu meydana gelmektedir (19-22).

CMV'nin doğrudan zararlı etkilerinin yanısıra dolaylı birçok etkisi vardır. CMV'nin yaptığı doku hasarı proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına ve inflamatuvar değişikliklerin oluşmasına yol açar. CMV vasküler endotel hücrelerine yerleşerek dokularda prokuagülan etki yaratır. Vasküler endotel hücrelerinden adezyon moleküllerinin salınımına yol açar. Adezyon molekülleri platelet ve lökositlerle reaksiyona girerek pıhtılaşmaya eğilimi artırır (23). Virüs ayrıca progenitor hematopoetik hücreleri inhibe ederek kan yapımını baskılar (24).

2.3.2 EBV Patogenezi

EBV insanlarda hayat boyu devam eden enfeksiyon meydana getirmek ve varlığını sürdürmek için B lenfositlerini kullanır. EBV tükürük ile bulaşır ve ilk enfeksiyon oral mukozadaki B hücrelerinde gerçekleşir. Virüs B hücreleri içinde latent olarak replike olur. Bu latent enfekte hücreler bir takım kısıtlı proteinler ve latentlik ile ilgili RNA molekülleri eksprese ederler. Böylece hastalığın evreleri ile ilgili olarak belirlenen latentlik tipleri tespit edilmiştir. Latentlik tipleri tablo 2.1 de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. EBV latentlik tipleri. Tselis (25)'den alınmıştır.

Latentlik tipi	LATENTLİK ANTİJENİ						
	EBER	EBNA-1	EBNA-2	EBNA-3	LMP-1	LMP-2	LMP-3
1	+	+	-	-	-	-	+
2	+	+	-	-	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
Latentlik tipi							
Latentlik 1		Burkitt Lenfoma					
Latentlik 2		Nazofarinks kanseri, Hodgkin hastalığı					
Latentlik 3		Enfeksiyöz mononükleoz, Lenfoproliferatif hatalık					

EBV, B hücrelerinin büyümesini uyarır ve apoptozu engeller. T hücreleri ise B hücrelerinin çoğalmasını kontrol eder. T hücrelerinin yokluğunda EBV, B hücrelerini ölümsüzleştirerek proliferasyona uğratar. Diğer protein ve gen ürünlerinin de katkısı ile bu durum lenfomaya kadar ilerleyebilir. Prodüktif faz esnasında öncelikle VCA, MA ve EA'ya karşı antikor oluşur. Bu fazın sona ermesinden sonra yani enfekte hücrelerin lizisinden sonra EBNA'lar oluşur. T hücreleri B hücrelerinin büyümesini sınırlar ve enfeksiyonun kontrolünde kilit role sahiptir. Prodüktif enfeksiyon sırasında B hücrelerinde üretilen interlökin-10 (IL-10) benzeri bir madde T hücre yanıtını inhibe ederek enfeksiyonun sınırlandırılmasını engeller (26).

Enfeksiyöz mononükleoz, EBV ile enfekte B hücreleri ve sitotoksik T hücreleri arasındaki etkileşim sonucu meydana gelir. Oluşan lenfomonositoz, lenfoid organların büyümesi ve halsizlik gibi şikâyetler uyarılmış sitotoksik T hücrelerinden kaynaklanır. Bu hücreler atipik lenfositler (Downey hücreleri) olarak tanımlanmıştır. Virüs hastalığı geçirenlerin B hücrelerinde latent kalır ve aktive olduğunda tükürük ile saçılabilir.

2.4. Epidemiyoloji

2.4.1. CMV Epidemiyolojisi

Yetişkinlerde CMV enfeksiyonu seroprevalansı dünyada %40-100 arasında değişmektedir (27). Bu oran yaşla birlikte artmaktadır (28). Sosyoekonomik düzeyi düşük ülkelerde özellikle Afrika ve Asya'da seroprevalans daha yüksektir (29). Amerika Birleşik Devletleri merkezli bir çalışmada CMV seroprevalansı 6-11 yaşındaki çocuklarda %36 iken, 80 yaş üzerindeki yetişkinlerde %91 saptanmıştır (30). Türkiye merkezli bir çalışmada CMV seropozitifliği; 1-6 yaş grubunda %82,1, 7-14 yaş grubunda %92 ve 15-49 yaş grubunda %97,8 olarak tespit edilmiştir (31).

2.4.2. EBV Epidemiyolojisi

EBV'yi çocuklar erken yaşta alırlar ve enfeksiyon subklinik olarak seyreder. Adölesan ve genç yetişkinlerde ise virüs çoğunlukla öpüşme ile alındığı için "öpücük hastalığı" da denmektedir. EBV enfeksiyonu dünyada yaygın görülen bir hastalıktır ve erişkinler arasında yaklaşık %90 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (32). Aydemir ve diğ. (33) yaptıkları çalışmada,

toplumda geçirilmiş enfeksiyonun bir göstergesi olan EBV VCA IgG antikorlarını ilk dört yaş için %67,9, ilk 30 yaş için %84,4 saptamışlar ve yaşla birlikte geçirilmiş EBV enfeksiyonunu insidansının arttığını belirtmişlerdir. Afrika genelinde sıtma kuşağı içerisinde yer alan bölgelerde elde edilen epidemiyolojik veriler göz önüne alındığında sıtma ve EBV'nin, Burkitt lenfoma gelişiminde kofaktör olarak rol oynadığı görülmektedir (34). Afrika'da yapılan bir çalışmada EBV seropozitif sıtmalılı çocuklardaki kantitatif DNA yükünün, seropozitif sıtma olmayan çocuklara göre altı kat fazla olduğu tespit edilmiştir (35). Nazofarenks kanseri çoğu popülasyonda nadir olmasına rağmen Güney Çin'de 100.000'de 55 oranı ile en yüksek insidanslı kanserlerden biridir (36). EBV ile nazofarenks kanseri arasındaki ilişki çok tutarlı olup EBV'ye ait genomlar kanser hücrelerinde tespit edilmiştir (37).

2.5. Klinik

2.5.1. CMV Kliniği

CMV; idrar, boğaz, semen, gözyaşı, kan, anne sütü ve dışkı gibi birçok örnekten izole edilmiş olup birçok organ ve sistemi etkilemektedir. İmmün sağlam bireylere bulaş başlıca beş yol ile olmaktadır.

1. Cinsel temas: Önceden cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü ve birden çok cinsel partneri olanların bulaş açısından daha riskli olduğu belirtilmektedir (38).

2. Direkt temas: Üst solunum yolu ve idrarla virüs atılımı önemli rol oynar.

3. Kan transfüzyonu ve organ nakli: Bir çalışmada 600'den fazla immün sağlam CMV seronegatif kan ürünü alıcısında CMV serokonverisyonu %0,9 olarak tespit edilmiştir (39).

4. Mesleki maruziyet: Sağlık çalışanları ve çocuk bakım merkezi çalışanları risk altındadır.

5. Perinatal geçiş: Virüs doğumdan önce alınabileceği gibi doğum sırasında ve sonrasında anne sütü ile de alınabilmektedir.

CMV mononükleoz: EM benzeri sendrom erişkin ve immünitesi sağlam bireylerde CMV enfeksiyonunun en sık klinik formudur. Genellikle

uzamış ateş, halsizlik, lenfositoz ve atipik lenfositler ile karakterize bir hastalık tablosudur. EM, en sık EBV tarafından meydana getirilir ve heterofil antikor varlığı ile tanı konur. Heterofil antikor testi negatif tespit edildiğinde CMV enfeksiyonuna yönelik ek testler istenmelidir. Enfeksiyöz mononükleozlu 494 hasta üzerinde yapılan takiplerde hastaların %79'unda EBV heterofil antikorları tespit edilmiştir. Heterofil antikor negatif 73 hastada yapılan ölçümlerde, bu hastaların yarısında CMV antikor testlerinde artan pozitiflik oranları bulunmuştur. Bunun sonucunda önceden seronegatif olan bu hastalarda primer CMV enfeksiyonu meydana geldiği saptanmıştır (40). CMV mononükleoz seyrinde hastaların yaklaşık üçte birinde papüler, makülopapüler ve skarlatiniform döküntüler görülebilir (41). Hastalık esnasında beta-laktam antibiyotik ve özellikle ampicilin kullanımı EBV mononükleozunda olduğu gibi yaygın makülopapüler döküntüye neden olabilir (42). CMV'ye bağlı klinik tablolar Tablo 2.2. de özetlenmiştir.

Tablo 2.2. CMV'ye bağlı klinik tablolar. Griffhiths (43)'den alınmıştır.

Gastrointestinal	Respiratuvar	Hematolojik
Kolit Enterit Gastrit Hepatit Pankreatit Kolanjit	Pnömoni	Trombositopeni Lökopeni Anemi Dissemine intravasküler kuagülasyon (DIK) Miyelodisplastik değişiklikler
Kardiyovasküler	Nörolojik	Ürolojik
Miyokardit Venöz tromboz	Menenjit Ensefalit Miyelit Retinit Üveit	Nefrit Prostatit

Hepatik tutulum: Karaciğer enzim yüksekliği semptomatik CMV enfeksiyonunda sık karşılaşılan bir durumdur. Ciddi karaciğer enzim

yüksekliği ise nadirdir. Akut CMV hepatiti seyri sırasında portal ven trombozu da bildirilmiştir (44). Granülomatöz hepatit ayırıcı tanısında da CMV gözönünde bulundurulmalıdır. Uzamış ateş en sık karşılaşılan semptom olup yapılan karaciğer biyopsisinde non kazeifiye granülomlar ve fokal nekroz tipiktir (45).

Gastrintestinal (GİS) tutulum: İmmün sağlam bireylerde nadir olmakla birlikte morbidite ve mortalite nedeni olabilmektedir. En sık semtomlar; karın ağrısı, ishal, ateş olup nadiren kanlı dışkılama ve gastrointestinal kanama gözlenebilmektedir. Patolojik olarak inklüzyon cisimciklerinin görüldüğü inflamatuvar kolit bulguları tanı koymada yardımcı olmaktadır. İmmün sağlam CMV kolitli olguların değerlendirildiği bir çalışmada endoskopik olarak hastaların %25' inde psödomembran oluşumu, %25'inde infiltratif değişiklikler, %50'sinde ise ülserasyonlar izlenmiştir (46). Abdominal ağrı ve kanlı ishal şikâyeti ile başvuran yaşlı hastalarda CMV koliti iskemik kolit ile karışabilmektedir. İmmün sağlam bireylerde CMV ayrıca özefajit, gastrit, ileit, Menetrier hastalığı ve kolon obstrüksiyonu gibi klinik durumlara nadir de olsa sebep olabilmektedir (47).

Nörolojik tutulum: Ensefalit CMV enfeksiyonunun nadir ancak ciddi bir komplikasyonudur. İmmün sağlam on CMV ensefalit olgusunun izlendiği bir çalışmada altı aylık izlem sonunda hiç ölüm olmadığı ve yalnızca bir hastada nörolojik sekel geliştiği bildirilmiştir (48). CMV Guillain Barre sendromu etyolojisinde suçlanan ajanlardan birisidir. CMV'ye bağlı Guillain Barre sendromu insidansının her 1000 primer CMV enfeksiyonlu hastada 0.6-2.2 olduğu tahmin edilmektedir (49). Ayrıca CMV enfeksiyonunun seyri sırasında transvers miyelit ve kraniyal sinir tutulumları görülebilmektedir (50).

Pulmoner tutulum: İmmün sağlam bireylerde çok nadirdir. Akciğer filminde diffüz interstisyel infiltrasyon ve solunum yetmezliği ile karakterize ciddi viral pnömoni tablosu oluşturabilir. Ampirik tedaviye rağmen düzelme olmayan pnömonilerde CMV pnömonisi akla gelmelidir. İmmün sağlam hastalarda antiviral tedavi ile ilgili daha fazla çalışma gereksinimi vardır.

Kardiyovasküler tutulum: İmmün sağlam bireylerde CMV'ye bağlı perikardit ve miyokardit oluşabilmektedir. Bir çalışmada kardiyomiyopatili ve miyokarditli hastaların endomiyokardiyal dokusundan PZR ile CMV DNA

tespit edilmiş ancak bu klinik durumlarla ilişkisi doğrudan ortaya konamamıştır (51).

İmmün sağlam yoğun bakım hasta grubunda CMV reaktivasyonu:

CMV reaktivasyonu kritik hasta gruplarında sık görülmektedir. İmmün yetmezliği olan hastalarda CMV reaktivasyonu beklenen bir sonuç olup immün sistemi sağlam kritik hasta grubunda CMV reaktivasyonu önemi artan bir klinik sorun haline gelmeye başlamıştır. Özellikle yoğun bakım ünitlerinde yatan immün sağlam kritik hastalarda yapılan çalışmalarda CMV reaktivasyonunun yaygınlığı %0-35'dir. Standart tanı kriterlerinin eksikliği, farklı çalışma tasarımları, yoğun bakım hastalarının dâhil edilme ve çıkarılma kriterlerinin farklılığı, istatistiksel analiz yöntemlerinin çeşitliliği nedeni ile bu geniş varyasyon açıklanabilir (52).

İmmün sağlam septik şoklu yoğun bakım hastalarında yapılan bir çalışmada CMV reaktivasyonu ile uzamış yoğun bakım ve mekanik ventilasyon süresi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (53). Farklı bir çalışmada immün sağlam, hastane enfeksiyonu gelişen hastalarda CMV enfeksiyonunun daha sık olarak görüldüğü belirtilmiştir (54). Böbrek yetmezliği olan ve steroid tedavisi alan immün sağlam hastalarda CMV reaktivasyonu daha yüksek oranda ortaya çıkmıştır (54).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada yoğun bakımda yatan mekanik ventilatöre bağlı immün sağlam hastalarda CMV reaktivasyonu %13,8 olarak bulunmuştur. Hastalardaki CRP (C-reaktif protein) ve IL-10 seviyelerinin yüksekliği ile eritrosit transfüzyonu sayısı risk faktörleri olarak tespit edilmiştir. CMV reaktivasyonu ağır organ disfonksiyonu ile ilişkili olmasına rağmen kötü klinik sonuçla uyumlu bulunmamıştır (55).

Amerika'da 2004-2006 yılları arasında CMV seropozitif 120 immün sağlam yoğun bakım hastasının izleminde CMV reaktivasyonunun sık olduğu görülmüş, hastanede uzun süre kalma ve ölümle ilişkili olduğunu düşündüren bulgular elde edilmiştir. Bu gibi durumlarda CMV profilaksisi için kontrollü çalışmalar yapılması gerektiğine vurgu yapılmıştır (56).

Heininger ve diğ. (57) tarafından yapılan bir çalışmada immün sağlam, CMV IgG seropozitif ve basitleştirilmiş akut fizyoloji skoru (simplified acute physiology scor: SAPS II) 40 ve üzerinde olan 56 yoğun bakım hastası

izlenmiştir. Hastaların %35,6'sında CMV enfeksiyonu tanısı plazma, periferik lökosit ve solunum sekresyonlarında pozitif CMV DNA sonucu ile konmuştur. CMV enfeksiyonu tespit edilen hastalarda mortalite oranı olmayanlara göre yüksek bulunmuş ve CMV enfeksiyonu saptanan hastaların yoğun bakımda kalma süresi diğerlerine göre anlamlı olarak uzun tespit edilmiştir.

2.5.2. EBV Kliniği

EBV; primer enfeksiyon nedeni olabileceği gibi bir takım komplikasyonlara da neden olabilir. Asıl klinik önemi ise çeşitli kanserleri uyarabilmesidir. Primer enfeksiyonları akut enfeksiyöz mononükleoz, bebek ve çocuklarda primer EBV enfeksiyonu, konjenital ve perinatal enfeksiyon, kronik EBV enfeksiyonu, nörolojik sendromlar ve hematolojik anomaliler olarak sınıflandırabiliriz.

Akut enfeksiyöz mononükleoz: EM, EBV'nin en iyi bilinen akut klinik tablosudur. Halsizlik, ateş ve baş ağrısı ile başladıktan sonra tonsillit veya farenjit, servikal lenf nodlarında büyüme ve hassasiyet tabloya eklenir. Simetrik bir lenfadenopati olur. Tonsillerde beyaz, gri-yeşil ve nekrotik eksüda gözlenebilir. Belirgin bir yorgunluğun yanısıra daha az olarak palatal peteşi, periorbital veya palpebral ödem, döküntü görülebilir. Hastaların çoğunda hafif derecede hepatit gözlenirse de hepatomegali ve sarılık nadirdir. Hastaların yarısında splenomegali mevcuttur. Primer EBV enfeksiyonu geçiren hastaların çoğunda buna karşı güçlü bağışıklık oluşur. Semptomlar ortalama iki haftada ortadan kalkarken halsizlik uzun süre devam edebilir.

Bebek ve çocuklarda primer EBV enfeksiyonu: Küçük bebeklerde ve çocuklarda enfeksiyon sık olmasına rağmen genellikle asemptomatiktir. EM bulgularının yanısıra otitis media, ishal, karın ağrısı gözlenebilir (58).

Hematolojik ve nörolojik bozukluklar: EBV her organı etkileyebilir. Miyokardit, pnömoni, pankreatit, mezenter lenfadenit ve glomerülonefrit gibi birçok tutulum primer EBV enfeksiyonu ile ilişkilidir. Nörolojik olarak Guillan-Barre sendromu, fasiyal sinir paralizi, meningoensefalit, aseptik menenjit, transvers miyelit, periferik nörit ve optik nörit izlenebilmektedir (25). Hematolojik olarak hemolitik anemi, trombositopeni, aplastik anemi, trombotik trombositopenik purpura, hemolitik üremik sendrom ve dissemine intravasküler koagülasyon izlenebilir.

Komplikasyonlar: Yaygın komplikasyonlardan biri ampisilin ve daha nadir olarak diğer penisilinler ile meydana gelen morbiliform döküntüdür (59). EBV ile bağlantılı diğer bir mukokutanöz lezyon dilin squamöz epitelinde meydana gelen oral saçlı lökoplakidir (60). Ağız, damak ve yanak mukozasını da tutabilse de genellikle dilin her iki yanını tutar ve kandida lezyonlarının aksine kazınma ile ayrılmayan beyaz plaklar şeklindedir. Bu lezyonlar nispeten HIV enfeksiyonuna spesifik görünmekte olup EBV replikasyonunda rol alan EBER ve LMP-1 ile kuvvetli bir ilişkisi vardır (60). Oral saçlı lökoplaki squamöz kanser için premalign lezyon olarak kabul edilmez. Spesifik bir tedavisi olmamasına rağmen zidovudin, asiklovir (ACV), gansiklovir, lokal podofilin, foskarnet ve izotretinoin kullanımlarının yararlı olabileceği rapor edilmiştir.

Dalak rüptürü nadir olarak görülen fakat hayatı tehdit eden bir komplikasyondur. Vakaların neredeyse tamamı erkektir ve %0,1-0,2 görülür (61). Hastalığın şiddeti ve süresi ile ilişkisi olmayıp tedavi yaklaşımı diğer dalak yaralanmalarında olduğu gibidir. Büyük lenfoid hiperplazi ve mukozal ödem nedeni ile üst hava yolunun tıkanması EM'nin nadir fakat ölümcül bir komplikasyonudur. Trakeostomi ve entübasyon ile tedavi edilebilir. Ödemi azaltmak için steroidler kullanılabilir.

EBV tarafından indüklenen lenfoproliferatif hastalıklar: EBV ile oluşan enfeksiyonlarda T hücre bağışıklığının yetersiz kalması sonucunda B hücrelerini ilgilendiren lenfoproliferatif hastalıklar ortaya çıkmaktadır.

Hemofagositik lenfositik lenfositik en yaygın tetikleyici sebebin EBV olduğu, yaygın histiositik proliferasyon ve hemofagositik ile karakterize ölümcül genetik bir hastalıktır (62). T hücre proliferasyonunun asıl patoloji olduğu bu hastalıkta akciğer, böbrek, kalp ve merkezi sinir sistemi tutulumu ile ateş, öksürük, halsizlik ve kilo kaybı gibi klinik belirtiler görülür.

Lenfomatoid granülomatozis EBV ile ilişkili lenfoid sistemi ilgilendiren bir hastalıktır. EBV ile enfekte B hücrelerinin klonal çoğalması söz konusudur (63). Doğumsal veya kazanılmış immün yetmezlikli hastalarda görülen bu sendromda; akciğer, böbrek, karaciğer, deri ve deri altı dokusunun tutulumu ve tipik histolojik değişiklikler gözlenir (64).

X'e bağı lenfoproliferatif hastalık, T hücrelerinde sinyal iletiminde rol oynayan sinyalci lenfosit aktivasyon proteinini kodlayan SHGD1A geninde oluşan mutasyon nedeni ile meydana gelir. Bu mutasyon sonucunda EBV'ye karşı immün yanıt esnasında meydana gelen B hücre proliferasyonunun T hücrelerince kontrol edilmesi önlenir (65).

EBV, transplantasyon sonrası meydana gelen lenfoproliferatif hastalık olgularının çoğunluğu ile ilişkilidir (66). Oluşan sendromlar benign poliklonal B hücre çoğalmasından B hücreli lenfomaya kadar değişebilir. EBV negatif alıcılarda yaygın olup şiddeti immün baskılanmanın tipi ve süresine bağlıdır. EBV onkojenik bir virüs olup, transplant alıcılarındaki lenfomaların yanı sıra başka kanser türleriyle de ilişkisi vardır (67). Burkitt lenfoma, HIV ilişkili tümörler, Hodgkin lenfoma, nazofarenks kanseri, baş ve boyun kanserleri ve T hücreli lenfoma etiolojisinde EBV'nin rolü vardır.

İmmün sağlam yoğun bakım hasta grubunda EBV reaktivasyonu:

Son yıllarda immün sistemi sağlam kritik hastalarda Herpesvirüs reaktivasyonlarının tespit edilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Kabul edilen genel görüş çoklu organ yetmezliği ve sepsis gibi durumlarda oluşabilecek immün baskılanmanın reaktivasyona yol açabileceği yönündedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda astronotlar ve askerliğe yeni başlayanlar arasında strese bağı olarak EBV reaktivasyonu bildirilmiştir (68, 69). Reaktivasyon esnasında salgılanan IL-10 benzeri bir madde, NK ve CD4 + T hücrelerin fonksiyonunu etkileyerek immün cevapta bozulmaya yol açabilir (70). Konakta oluşan bu etkiler viral reaktivasyonu indükler. Sepsisli hastalarda yapılan çalışmalarda kontrol grubuna göre yüksek oranda EBV DNA seviyeleri tespit edilmiş ve bunun muhtemelen sepsise bağı immün baskılanma nedeni ile oluştuğu değerlendirilmiştir (71). Bir çalışmada ise en az 5 gün yoğun bakım ünitesinde takip edilen farklı hasta gruplarının kanlarında EBV DNA tespit edildiği ve bunun mortalite ve morbidite ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (72).

2.6.Tanı

2.6.1. CMV Tanısı

CMV çok yaygın bir virüs olup hastalık olmadan da virüs tespit edilebileceği gibi latent virüsün reaktivasyonu da tanıda karışıklığa neden

olabilmektedir. Geçmişte viral kültürler ve seroloji daha çok kullanılmakta iken günümüzde moleküler yöntemler CMV tanısında standart hale gelmiştir. Tanıda genel olarak seroloji, kalitatif ve kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), kültür, antijenemi ve histopatolojik yöntemler ön plandadır.

Hastalık sırasında farklı zamanlarda yapılan serolojik ölçümlerle önceki veya yeni geçirilen hastalık hakkında yorum yapılabilir. Antikor ölçmek için en sık kullanılan yöntemler EIA (Enzyme immunoassay), indirek ve antikompleman IFA (Indirect Fluorescent Antibody Test) testidir. Kompleman fiksasyon, hemaglütinasyon ve nötralizasyon testleri daha az sıklıkta kullanılmaktadır. EIA hızı, duyarlılığı, özgüllüğü ve kolay ulaşılabilirliği nedeni ile daha çok tercih edilmektedir.

İnsan fibroblast kültürleri kullanılarak kan, idrar, bronkoalveoler lavaj sıvısı, beyin omurilik sıvısı ve biyopsi materyallerinde CMV izole edilebilir. Graves ve diğ. (73) tarafından tanımlanan shell vial yöntemi daha hızlı sonuç verdiğinden artık eski tip kültürden daha fazla tercih edilmektedir. Bu yöntemle düşük sayıdaki virüsler bile 24 saat içerisinde çoğaltılabilmektedir. CMV'ye bağlı sitopatik etkiler gelişmeden önce erken dönemde oluşan antijenlerin saptanması esasına dayanır. Klinik örneklerin santrifüj edimesinin ardından hücreler erken antijene karşı monoklonal antikora maruz bırakılır. Antikorların bağlanması erken CMV replikasyon göstergesidir.

Artık günümüzde aktif CMV hastalığının teşhisi, CMV açısından risk altında olan hastaların izlemi ve tedaviye cevabın takibi için birçok laboratuvar da kantitatif PZR yöntemi kullanılmaktadır (74). Kalitatif CMV PZR testleri çok duyarlı olmakla birlikte latent virüsü ve aktif replike olan virüsü tespit etmekte başarısız olabilmektedir. Bu nedenle hastaların tanı ve tedavisinde sınırlı bir role sahiptir.

Moleküler amplifikasyon çok erken antijen 1, majör çok erken antijen, gB, gH, pp65, pp67 ve majör kapsid proteini gen bölgelerinden yapılabilir. PZR ile CMV DNA lm birçok klinik durumda kullanılmaktadır. İmmün yetmezliği olan hastaların takibi ve ilaç kullanan hastalarda tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi önemli kullanım alanlarından birisidir.

CMV DNA; PZR ile plazma, serum, periferik lökositler ve tam kanda tespit edilebilmektedir. Bir çalışmada çoğu hastada CMV DNA düzeyinin tam kanda, plazmaya oranla 1 log daha fazla olduğu tespit edilmiştir (75). Semptomları olan hastalarda kesin bir tanı koydurucu CMV DNA düzeyi veya eşik değeri belirlenmemiş olup, bu konuda ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Moleküler kantitatif testlere alternatif olarak aktif hastalık sırasında sentezlenen CMV mRNA ölçümü ile risk altındaki hastaların tespit edilmesi mümkün olabilmektedir.

CMV antijenemi testleri periferik kan lökositlerindeki virüs proteinlerinin hızlı ve direk olarak tespit edilmesi esasına dayanır. Bu teknikte periferik lökositlerdeki pp65 matrix proteinine karşı işaretli monoklonal antikorlar kullanılır. Kantitatif olarak lökositlerdeki pozitif antijen sayısı olarak ifade edilir. Avantajı çok hızlı bir test olması, dezavantajı ise lökosit sayısı düşük hastalarda sonuçların istikrarsız olmasıdır. Bazı çalışmalarda antijenemi testinin kan CMV DNA ölçümü ve kültürden daha hassas olduğu bildirilmektedir (76). Başka bir çalışmada ise pozitif hücre sayısının artmasının, aktif hastalık geçirme riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (77).

Doku biyopsilerinde histopatolojik inceleme daha çok CMV'ye bağlı invaziv hastalık tanısında yararlıdır. Tanı tipik bazofilik intranükleer inklüzyon cisimciklerinin görülmesine dayanır. Eğer eozinofilik sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülürse bunun immünohistokimyasal boyama ile desteklenmesi gerekir (78). Akciğer biyopsisi ve bronkoalveoler lavaj örneğinde inklüzyon cisimciklerinin görülmesi invaziv hastalık tanısını desteklemekte ve herhangi bir kültür pozitifliğine katkıda bulunmaktadır.

2.6.2. EBV Tanısı

EBV tanısında doğrudan tanı, izolasyon yöntemleri ve serolojik testler kullanılmaktadır.

Doğrudan tanıda antijen saptama ve nükleik asit testleri yer alır. EBNA-1, EBV ile enfekte bütün hücrelerden salınan tek antijen olup monoklonal antikor kullanılarak yapılan anti-kopleman immünofloresan testi ile dokularda ve hücrelerde boyanma ile saptanabilmektedir (79). EBNA-2 ve LMP-1 boyamaları ile latentlik tanımlanabilmektedir (80).

EBV DNA miktarı kan veya plazmada polimeraz zincir reaksiyonu ile kantitatif olarak tespit edilebilmektedir. Bu amaçla insitu hibridizasyon, hücre süspansiyonlarında sito-hibridizasyon, Southern blot hibridizasyon ve nükleik asit amplifikasyon testleri kullanılabilir. Enfeksiyöz mononükleoz ile ilişkili hastalık şüphesine göre farklı örneklerle nükleik asit tespit çalışmaları yapılabilir. Üniversite öğrencileri arasında yapılan bir çalışmada hastalığın şiddeti ve kan EBV viral yükü arasında bir korelasyon saptanmıştır (81). Santral sinir sistemi hastalığı olmayan lenfoproliferatif hastalıklarda kantitatif olarak kan, serum, plazma ve lökositlerde EBV DNA tespit edilebilir. Santral sinir sistemi hastalığı olanlarda BOS örneğinde kantitatif olarak EBV DNA çalışılabilir. EBV ile ilgili diğer tümörlerde de biyopsi örneklerinde EBV DNA değerlendirilmesi yapılabilir (82).

Serolojik testler daha ziyade primer EBV enfeksiyonlarının tanısında kullanılan testlerdir. EBV'ye bağlı EM geçiren bir hastada heterofil antikorların gösterilmesi tanı koydurucudur. Amerika'da kliniği uyumlu hasta grubunda en çok tercih edilen tanı yöntemidir (83). Klasik antikor testi olan Paul-Bunnell testinde koyun eritrositleri kullanılırken, Monospot testinde at eritrositleri kullanılarak aglütinasyon araştırılmaktadır. Bunlar EM tanısında kullanılan hızlı testler olup duyarlılığı %85, özgüllüğü %100 civarındadır (84).

EBV'ye bağlı EM hastalarının %15-20' sinde heterofil antikor tespit edilemediğinden tanıyı doğrulamak için başka serolojik değerlendirmelere ihtiyaç vardır. Daha çok IFA olmak üzere ELISA ve immüno-blot testleri bu antikorları tespit etmek amacı ile kullanılmaktadır. Viral kapsid antijenine karşı oluşan IgM ve IgG tipi antikorlar hastalığın başlangıcından itibaren bulunur. VCA IgM üç ay içinde kaybolurken VCA IgG ömür boyu pozitif olarak kalır ve geçirilmiş enfeksiyon delilidir. Yine virüsün EA antijeni ve EBNA antijenine karşı oluşan antikorlar da hastalığın tanımlanmasında yardımcıdır. EBV ile ilgili hastalıklardaki seroloji profilleri Tablo 2.3. de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. EBV ile ilgili hastalıklardaki serolojik profiller

EBV İLE İLGİLİ DURUM	VCA IgM	VCA IgG	EA	EBNA
Seronegatif	-	-	-	-
Primer Enfeksiyon	+	+	+/-	-
Geçirilmiş enfeksiyon	-	+	+/-	+
Enfeksiyöz mononükleoz	+	+	+	-
Reaktivasyon	+/-	+++	+++	+

2.7. Tedavi

2.7.1. CMV tedavisi

CMV için antiviral kullanımı immün sistem baskılanması olan hastalarda iyi tanımlanmış olmasına rağmen immün sağlam hastalarda kullanımı ile ilgili bilimsel tartışmalar devam etmektedir. Birçok klinisyene göre antiviral ilaçların kullanımı profilaksi ve önleyici tedaviye yönelik olmalıdır.

CMV tedavisinde kullanılan başlıca antiviral ilaçlar; gansiklovir (GCV), valgansiklovir, asiklovir (ACV), valasiklovir, maribavir, foskarnet ve sidofovir'dir. Bu ilaçlarla ilgili çalışmaların birçoğu immün sistemi baskılanmış ve organ nakli alıcılarında yapılmış olup immün sağlam hastalarda kullanımı ile ilgili çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır. CMV'nin immün sağlam bireylerde kendini sınırlayıcı özelliği göz önünde bulundurulduğunda antiviral ilaçların yararlı olup olamayacağı ve yan etkileri ile ilgili tartışmalar devam etmektedir. Eğer tercih edilecekse direnç gelişimini engellemek için çok kısa süre kullanılmalıdır. Ayrıca CMV enfeksiyonu tedavisinde hiperimmünglobulin ve adaptif immünoterapi de kullanılmaktadır. CMV enfeksiyonu tedavisinde kullanılan tüm tedaviler Tablo 2.4.de özetlenmiştir.

Tablo 2.4. CMV tedavisinde kullanılan ilaçlar. Jain ve Duggal (52)'den alınmıştır.

İlaç/Tedavi	Grup	Yan etkiler	Kullanım alanı
Gansiklovir Valgansiklovir	Nükleozid analogu	Kemik iliği baskılanması, nöropsikiyatrik rahatsızlık	Profilaksi ve tedavi
Asiklovir Valasiklovir	Nükleozid analogu	Allerjik reaksiyon, tremor, hallüsinasyon	Profilaksi
Sidofovir	Nükleozid analogu	Nefrotoksisite Trombositopeni Nörotoksisite	Tedavi
Foskarnet	Pirofosfat analogu	Nefrotoksisite Parestezi Elektrolit bozuklukları	Profilaksi ve tedavi
Maribavir	Benzoimidazol ribozid bileşiği	Yok	GCV dirençli CMV hastalığının profilaksi ve tedavisi
Cytogam	CMV hiperimmünoglobulin	Kızarıklık Ateş Bulantı Kusma Artralji	İmmünmodülatördür. CMV hastalığının profilaksi ve tedavide diğer antiviral ilaçlarla beraber kullanılır.
CD8+ Sitotoksik lenfosit infüzyonu	Adaptif immünoterapi	Yok	Profilaksi ve preemptif tedavi

2.7.2. EBV Tedavisi

EBV enfeksiyonu tedavisi genellikle destek tedavisi şeklinde olup antiviral kullanımı ile ilgili veriler yeterli değildir. Primer enfeksiyonda asıl tedavi semptomatik olup bol sıvı alımı, istirahat, asetaminofen ve non-steroid antienflamatuvar ajanlar kullanılabilir. Plasebo kontrollü çok merkezli 94 EM hastasının değerlendirildiği bir çalışmada ACV ve kortikosteroid kullanımının orofaringeal virüs yayılımını azalttığı fakat iyileşme süresine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (85). Hastalığın kendini sınırlayıcı özelliğinden dolayı kortikosteroid kullanımının nefes darlığı ve hava yolu tıkanması gibi semptomlu hastalar ile, yaşamı tehdit edebilecek karaciğer yetmezliği ve aplastik anemi gibi durumlarında kullanılması uygun olacaktır.

Asiklovir litik enfeksiyon esnasında EBV DNA'yı etkileyerek viral çoğalmayı inhibe eden bir nükleozid analogu olup latent enfeksiyonları önleyici etkisi bilinmemektedir. Asiklovir'in intravenöz ve oral formu EM hastalarında tedavi amaçlı kullanılmıştır. Fakat tedavi ile viral yayılım kısa süreli olarak bastırılrsa da önemli klinik yarar gözlenmemiştir (86). İnterlökin-2, interferon alfa ve intravenöz immünglobulin kullanımları EBV ile ilgili hastalıkarda rapor edilse de bu yöntemlerin yararı net olarak gösterilememiştir (87).

İnsan tümörlerinde etken olarak karşımıza çıkan EBV'ye karşı virüsün litik enfeksiyonunda rol onayan Gp 350/220 ve CD21 yapıları kullanılarak aşı geliştirme olanakları düşünülmektedir. Hayvan çalışmalarında saf Gp 350/220 antijeni ile yapılan immünizasyonda EBV nötralize edici antikorların uyarıldığı görülmüştür (88).

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız üçüncü basamak tedavi kuruluşu olan ve Ankara’da hizmet veren 1000+200 yatak kapasiteli Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Eğitim hastanesinde gerçekleştirildi. ‘İmmün sağlam yoğun bakım hastalarında Cytomegalovirus (CMV) ve Epstein-Barr virüs (EBV) reaktivasyonlarının incelenmesi” başlığı altında yapılan çalışma için GATA Etik Kurulu’ndan 15 Mart 2013 gün ve EĞT. ÖĞT. : 1491-572-13/1648.4-729 sayılı yazı ile onay alındı.

3.1. Çalışma grubu ve örneklerin toplanması

Çalışmaya 25 Mart 2013-28 Nisan 2014 tarihleri arasında İç Hastalıkları Yoğun Bakım Kliniği ve Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinde yatarak tedavi gören 60 hasta alındı.

Çalışmamıza 18 yaş ve üstü en az yedi gün yoğun bakımda yatarak tedavi gören hastalar dâhil edildi. Kanseri tanısı olan, kemoterapi, yüksek doz steroid tedavisi, immün baskılayıcı tedavi alan hastalar ile febril nötropenik hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastalar yoğun bakımda en az yedi gün yattıktan sonra değerlendirmeye alındı. İlk değerlendirmede gerekli kriterleri taşıyan hastalardan viral DNA çalışılması için tam kan ve idrar örnekleri toplandı. Yatmaya devam eden hastalardan ilk değerlendirmeden sonraki 7, 14 ve 21’inci günlerde benzer şekilde tam kan ve idrar örnekleri toplandı. Nakil veya taburcu olan hastalar ile ölen hastaların yalnızca yoğun bakımlarda yattıkları süre içinde alınan örnekleri çalışmaya dâhil edildi.

İlk örneklerin alındığı gün hastaların hsCRP düzeyleri ile örneklerin alındığı bütün günlerde hastaların tam kan profilleri (hemoglobin seviyesi ile lenfosit ve monosit yüzdeleri) kayıt altına alındı.

Klinik olarak hastaların vital bulguları, klinik tanıları, ko-morbid hastalıkları, ateşleri, hastane enfeksiyonu, kan transfüzyonu öyküsü ve yoğun bakımdaki süreci (nakil, taburculuk veya ölüm) kayıt altına alındı.

Çalışmaya katılan hastaların EBV ve CMV enfeksiyonunu daha önce geçirip geçirmediği ile ilgili serolojik çalışma, bu iki virüse maruziyetin

ülkemizde hem çok yüksek olması hem de maliyet göz önüne alınarak yapılmamıştır.

Hastalardan toplanan tam kan ve idrar örnekleri -70°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma sırasında örnekler oda ısısında çözündürüldü.

Çalışmamızda örneklerde saptanan CMV DNA ve EBV DNA pozitifliği reaktivasyon lehine değerlendirilmiştir.

3.2. Kullanılan malzeme ve cihazlar

Kullanılan sarf malzemeleri, cihaz ve ekipmanlar aşağıda listelenmiştir.

3.2.1. PZR ve diğer sarf malzemeleri

- Alkali fenol-kloroform-izoamil alkol (Amresco, ABD).
- Pronase E (Serva, Danimarka).
- Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA, Sigma, Almanya).
- Sodyum dodesil sülfat (SDS, Sigma, Almanya).
- Potasyum klorür (KCl, Sigma, Almanya).
- Tris-hidroklorik asit (Tris-HCl, Sigma, Almanya).
- Magnezyum klorür ($MgCl_2$, Sigma, Almanya).
- Hot start taq DNA polimeraz (Bioron, Almanya).
- Deoksinükleotid trifosfat (dNTP) miks (Fermentas, Litvanya).
- Agaroz base (Prona, European Union).
- Etidyum bromid (Amresco, ABD).
- Loading dye solution (Fermentas, Litvanya).
- O'RangeRuler 50 bp DNA ladder (Thermo Scientific, ABD).
- Tris asetat-EDTA (TAE) buffer (Sigma-Aldrich, ABD).
- Etil alkol (Merk, Almanya).
- İzopropil alkol (Merk, Almanya).

3.2.2. Cihaz ve ekipmanlar

- Bio TDP-100 45°C inkübatör (Boeco, Almanya).
- Buzdolabı (Electrolux, ABD).
- Derin dondurucu, -80°C (Snijders Scientific, Hollanda).

- 125 A SCS hassas terazi (Precisa, İsveç).
- Optik PZR tüpleri (BIOplastics, Hollanda).
- Vortex Mixer VM 20 karıştırıcı (IsoLab, Almanya).
- Muhtelif mikropipetler, Proline Pipette (Biohit, Finlandiya).
- Muhtelif pipet uçları 10µl, 200 µl, 1000 µl. (Hamilton, ABD)
- Muhtelif santrifüj tüpleri (Corning Incorporated, ABD).
- Centrifuge 5417R santrifüj (Eppendorf, Almanya).
- Primer-prob dizayn yazılımı (OligoYap 4.0, Dr. Mehmet YAPAR).
- pHmetre (EMAF, Türkiye).
- ABI Prism 7500 real-time PZR cihazı (Applied Biosystems, ABD).
- Mini Sub Cell GT System elektroforez tankı (BioRad, ABD).
- GelDoc 2000 jel görüntüleme cihazı (BioRad, ABD).
- Elektroforez güç kaynağı (BioRad, ABD).
- Jenway 6405UV/vis. Spektrofotometre (İngiltere)

3.3. Örneklerin hazırlanması ve viral DNA ekstraksiyonu

1. Hücrelerin parçalanması ve inhibitörlerin ortamdan uzaklaştırılması için örnekler (50 µl tam kan ve 100 µl idrar) 500 µl'lik izotonik solüsyon içeren tüplerde 15-20 dakika bekletildi.

2. Daha sonra bu tüp vortekslenerek 120 µl'si ayrı bir santrifüj tüpüne alındı ve üzerine 12 µl pronase E (steril distile su içinde, 70 mg/ml) ve 500 µl pronase E tamponu (20 mM tris-HCl, 10 mM EDTA, %0,2 SDS) eklenerek tekrar vortekslendi.

3. Sonrasında tüpteki karışım en az 1 saat kalmak üzere 45°C'ye ayarlanan inkübatöre yerleştirildi. İnkübasyon sonrası karışım üzerine 500 µl alkali fenol-kloroform-izoamil alkol eklendi ve tüp vortekslendi.

4. Takiben tüp 13000 rpm'de 5-7 dk santrifüjlendi ve sonrasında tüpün üst kısmındaki berrak faz (yaklaşık 400-500 µl) ayrı bir tüpe alınarak üzerine 600 µl izopropil alkol eklendi.

5. Son karışımı içeren tüp vortekslendikten sonra, 13000 rpm'de 10 dk santrifüjlenerek süpernatant döküldü ve tüpün dibindeki çökelti üzerine 500 µl

%75'lik etil alkol eklendi.

6. Son olarak 5 dk santrifülemeyi takiben üst kısım yavaşça dökülerek tüpler 37°C'de kurutuldu ve tüm alkol kalıntılarının kaybolduğu kontrol edildikten sonra tüp içindeki DNA 100 µl distile su ile sulandırıldı.

7. DNA konsantrasyonu spektrofotometre ile 25 ng/µl olacak şekilde ayarlandı. Kullanıma hazır olan ekstraksiyon ürünleri +4°C'de, 1 haftadan daha uzun süre saklanacak örnekler ise -20°C'de saklandı.

3.4. Real-time PZR testleri

Örneklerde EBV DNA ve CMV DNA varlığını araştırmak için genel primerlerin ve spesifik problemlerin kullanıldığı daha önce tanımlanmış bir real-time PZR testi kullanıldı (89). PZR karışımı ve reaksiyon döngüleri Tablo 3.1. de ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Tablo 3.1. PZR karışımında yer alan maddeler ve konsantrasyonları.

PZR karışımı	Miktar	Toplam miktar/25 µl
2X PZR miks*,	12,25 µl	1X konsantrasyon
İleri primer, 100 pmol/µl	2,5 µl	10 pmol
Ters primer, 100 pmol/µl	2,5 µl	10 pmol
Tip spesifik prob, 25 pmol/µl	2,5 µl	2,5 pmol
DNA içeren örnek, 25 ng/µl	5 µl	125 ng
Hot start taq DNA polimeraz, 5 U/µl	0,25 µl	1,25 U
Toplam	25 µl	
*2X 100 mM KCl, 20 mM tris-HCl, 3 mM MgCl ₂ , 0,50 mM dNTP miks.		

PZR reaksiyonlarının gerçekleştirilmesi ve amplifikasyon döngüleri:

1. İlk olarak ince duvarlı ve real-time PZR cihazının optik okuyucusu için uygun olan 0,2 ml'lik tüpler içinde her bir örnek için PZR karışımı hazırlandı.
2. Karışıma spektrofotometre ile konsantrasyonu 25 ng/µl olarak ayarlanan ekstrakte DNA'dan 5 µl ilave edildi.
3. Amplifikasyon döngüleri: (i) 95°C'de 10 dk 1 döngü (hot start taq DNA polimeraz aktivasyonu için), (ii) 95°C'de 15 sn ve 60°C'de 1 dk olmak üzere 40 döngü olarak gerçekleştirildi (90).

4. Taqman probun dizaynında floresan boya olarak 6-carboxy fluorescein (FAM) ve non-floresan boya olarak da black hole quencher (BHQ) kullanıldı.
5. Tüm reaksiyonlar, laboratuvarımız koleksiyonunda bulunan ve sekans çalışmaları ile doğrulanmış pozitif kontrollerin kullanıldığı testlerle optimize edilerek tekrarlanabilirlikleri kontrol edildi. Negatif kontrol olarak da hedef DNA içermeyen bir örnek kullanıldı.
6. Reaksiyonlarda internal kontrol olarak insan gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) gen gölgesini hedefleyen primerler ve özgün bir prob kullanıldı. İnternal kontrol ile pozitiflik saptanmayan örnekler çalışma dışı bırakıldı.
9. Tüm PZR işlemleri ve analizler ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems, ABD) cihazı ile yapıldı.

3.5. Primer ve prob lar

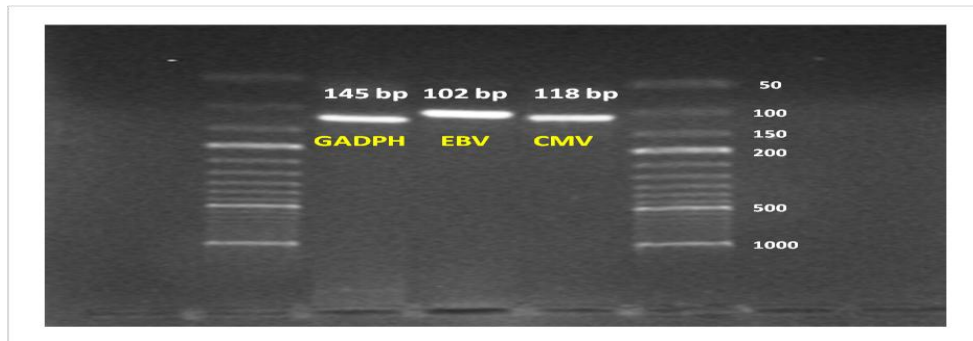
Tüm primer ve prob lar (Tablo 3.2.) OligoYap 4.0 yazılım programıyla dizayn edildi (91). Dizilerin özgünlükleri internet yardımıyla GenBank'ın BLAST özelliği ile kontrol edildi ve MWG-Biotech (Almanya) firmasına sentezlettirildi. Real-time PZR testlerinde kullanılan primer ve prob lar tablo 3.2. de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Real-time PZR testlerinde kullanılan primer ve probalar.

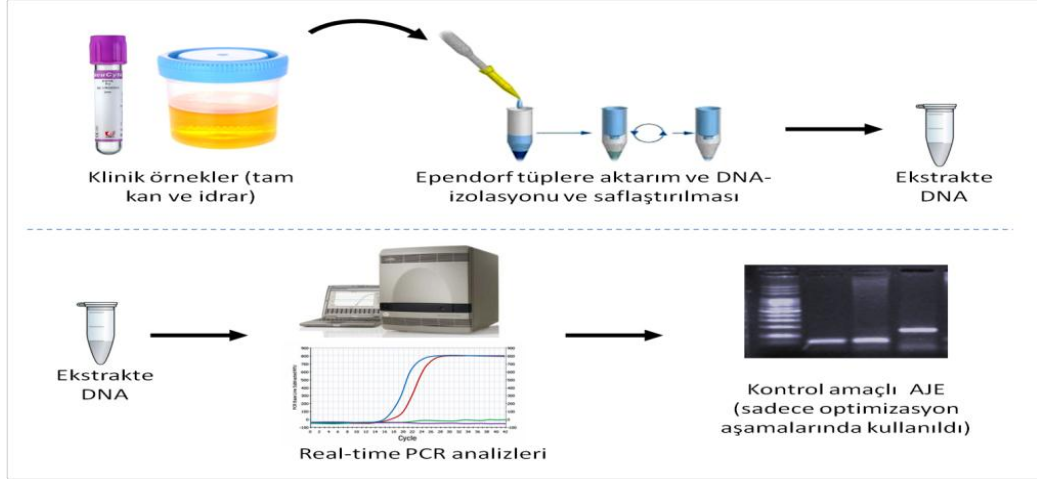
	Hedef genler	Primer ve probalar	Amplikon büyüklüğü
CMV genel	UL20 tip-1 membran protein geni	P1 (ileri): 5'-ggaagtagcgctcggtgtttatg-3'	118 baz çifti
		P2 (ters): 5'-gccacaacggcatctacgatac-3'	
		Prob: 5'-FAM-cagcgctcgctcactcggtggc-BHQ-3'	
EBV	Major tegument proteini, BNRF1/p140 gen bölgesi	F: 5'-gaacctgggtcatcctttgcca-3'	102 baz çifti
		R: 5'-ccagtgcctcggtatagccgta-3'	
		P: 5'-FAM-agtacgagtgctgcgaccagatac-BHQ-3'	
İnternal kontrol (GAPDH)	İnsan GAPDH geni	P1 (ileri): 5'-tcctgcaccaccaactgcttag-3'	145 baz çifti
		P2 (ters): 5'-catcacrccacagytyccagag-3'	
		Prob: 5'-FAM-aggtcatccatgacaactttggyatcg-BHQ-3'	
Primer ve prob dizilerindeki R ve Y kodları dejenere bazları göstermektedir; R=(A/G) ve Y=(C/T) olasılıklarını ifade eder.			

3.6. PZR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi (AJE) ile görüntülenmesi

Optimizasyon çalışmaları sırasında amplifiye edilen PZR ürünleri AJE ile de görüntülendi (Şekil 3.1.) Elektroforez için %2,0'lik agaroz jeller hazırlandı. Amplikonlar 0,5X TAE buffer içinde 120 voltta 35 dk sabit akımda yürütüldü ve GelDoc 2000 jel görüntüleme cihazı (BioRad, ABD) ile görüntülenip fotoğraflandı. Amplikon büyüklüklerini belirleyebilmek için 50 bp'lik DNA ladder kullanıldı (Thermo Scientific, ABD). Klinik örneklerin işlenmesi ve PZR testlerinin yapılışı Şekil 3.2. de şematize edilmiştir.



Şekil 3.1. Örnek bir PZR testi sonrası AJE görüntüsü.



Şekil 3.2. Klinik örneklerin işlenmesi ve PZR testleri

3.7. İstatistiksel analizler

İstatistik analizler SPSS 15.0 (Chi., IL., USA) paket programı ile gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler; ortalama, ortanca, minimum, maksimum, frekans, yüzde olarak verilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, kesikli değişkenlerin karşılaştırılmasında ise ki-kare veya Fisher'in kesin testi kullanılmıştır. Olguların sağ kalım olasılıkları Kaplan Meier yöntemi ile saptanmıştır. Olguların belirli klinik özelliklerine göre sağ kalım olasılıkları arasındaki fark olup olmadığı Long Rank testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel önemlilik için $p < 0.05$ değeri kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamıza 25 Mart 2013-28 Nisan 2014 tarihleri arasında İç Hastalıkları Yoğun Bakım Kliniği ve Anestezi Yoğun Bakım Kliniği'nde yatarak tedavi gören immün sağlam 18 yaş üstü 60 hasta dâhil edildi.

4.1. Hastaların demografik ve epidemiyolojik özellikleri

Hastaların yaşları 20-96 yıl arasında değişmekteydi. Yaş ortalaması 63.3 yıl olarak saptandı.

Hastaların 28'i (%46,7) İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesi, 32'si (%53,3) Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi'nde takip edildi.

Hastaların 34'ü (%56,7) erkek, 26'sı (%43,3) kadındı. CMV reaktivasyonu saptanan 5 hastanın 3'ü erkek, 2'si kadındı. EBV reaktivasyonu saptanan 14 hastanın 7'si erkek, 7'si kadındı. Yoğun bakımda takip edilen hastaların tanıları Tablo 4.1 de, viral reaktivasyon tespit edilen hastaların tanıları Tablo 4.2 de verilmiştir.

Tablo 4.1. Yoğun bakımda takip edilen hastaların tanıları

Tanı	Hasta sayısı	%
Pnömoni	15	25,0
Travma	10	16,7
Miyokard enfarktüsü	5	8,3
KOAH alevlenmesi	5	8,3
Sepsis	4	6,7
Ateşli silah yaralanması	3	5,0
GİS kanaması	2	3,3
Akut böbrek yemezliği	2	3,3
Cilt yumuşak doku enfeksiyonu	1	1,7
Diyabetik ketoasidoz	1	1,7
Epilepsi	1	1,7
Hipernatremi	1	1,7
İntraabdominal enfeksiyon	1	1,7
İleus	1	1,7
İskemik kolit	1	1,7
İskemik beyin hastalığı	1	1,7
Konjestif kalp yetmezliği	1	1,7
Pankreatit	1	1,7
Pulmoner tromboemboli	1	1,7
Subaraknoid kanama	1	1,7
Serebro vasküler olay	1	1,7
Toksikasyon	1	1,7
TOPLAM	60	100

Tablo 4.2 Viral reaktivasyon tespit edilen hastaların yoğun bakıma yatış endikasyonlarına göre sayıları

TANI	CMV Reaktivasyonu	EBV Reaktivasyonu
Pnömoni	1	6
Travma	1	2
Sepsis	0	1
GİS kanaması	0	1
Akut böbrek yetmezliği	0	1
Pulmoner tromboemboli	0	1
Toksikasyon	0	1
İskemik kolit	0	1
Ateşli silah yaralanması	1	0
KOAH alevlenmesi	1	0
Diyabetik ketoasidoz	1	0
TOPLAM	5	14

4.2. Hastaların klinik ve laboratuvar özellikler

Çalışmamızda CMV reaktivasyon oranı %8,3, EBV reaktivasyon oranı ise %23,3 olarak bulundu.

CMV reaktivasyonu tespit edilen dört hastanın yatışının 7'nci gününde, bir hastada ise yatışının 14'üncü gününde CMV DNA pozitif tespit edildi. EBV reaktivasyonu tespit edilen 14 hastanın tamamında yedinci gün değerlendirmesinde EBV DNA pozitif tespit edildi.

EBV DNA ve CMV DNA reaktivasyonu tespit edilen hastaların eş zamanlı tam kan örneklerinin hiçbirinde lenfositoz ve monositoz tespit edilmedi.

Takiplerde; hastaların 37'sinde (%61,7) ateş, 51'inde (%85) anemi, 42 (%70)'sinde kan transfüzyonu öyküsü mevcuttu.

Yattıkları dönemde hastaların 33'ünde (%55) hastane enfeksiyonu gelişti. Hastane enfeksiyonlarının 19'u kan dolaşımı, 10'u solunum sistemi ve 4'ü üriner sistem enfeksiyonu idi.

Hastaların ilk değerlendirmesinde alınan hsCRP değerlerinin ortalaması 116,03 mg/L (minimum: 10 mg/L maksimum: 306 mg/L) mg/L olarak tespit edildi.

Hastaların 46 (%76,6)'sının yatış süresi 28 günden azdı. Bunların 26 (%43,3)'sı taburcu veya nakil olarak çalışmadan çıktı. Geri kalan 20 (%33,3)'si kaybedildi. Ondört (%23,3) hasta ise 28 günden fazla bir süre yoğun bakımda yatmaya devam etti.

Yirmisekiz günlük takiplerde tüm hastalarda cinsiyet, yaş, ateş, anemi, kan transfüzyonu, hastane enfeksiyonu varlığı, mekanik ventilasyon, CMV ve EBV reaktivasyonu açısından sağ kalım oranları incelendi.

Erkek ve kadın cinsiyetler arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Yirmisekizinci günde erkeklerde sağ kalım hızı %72,6 iken, kadınlarda %50,4 olarak bulunmuştur (Long Rank: 1.231 $p=0.267$).

Yaş gözününe alındığında 65 yaş ve üstü ile 65 yaş altı hastalarda sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.199$). Yirmisekizinci günde 65 yaş ve üstü hastalarda sağ kalım hızı %54,9 iken, 65 yaş altı hastalarda %77,5 olarak bulunmuştur (Long Rank: 1.652 $p=0.199$).

Ateşi olan ve olmayan hastalar arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Yirmisekizinci günde ateşi olan hastalarda sağ kalım hızı %66 iken ateşi olmayan hastalarda %55,8 olarak bulunmuştur (Long Rank: 0.497 $p=0.481$).

Anemisi olan ve anemisi olmayan hastalar arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Yirmisekizinci günde anemisi olan hastalarda sağ kalım hızı %65,8 iken, anemisi olmayan hastalarda %45 olarak bulunmuştur (Long Rank: 0.962 $p=0.327$).

Kan transfüzyonu yapılan ve kan transfüzyonu yapılmayan hastalar arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Yirmisekizinci günde kan transfüzyonu yapılanlarda sağ kalım hızı %64,2 iken, kan transfüzyonu yapılmayanlarda %58,8 olarak bulunmuştur (Long Rank: 0.000 $p=0.987$).

Hastane enfeksiyonu gelişen ve gelişmeyen hastalar arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Yirmisekizinci günde hastane enfeksiyonu gelişenlerde sağ kalım hızı %72,7

iken, hastane enfeksiyonu gelişmeyenlerde %44,5 olarak bulunmuştur (Long Rank: 3.489 $p=0.062$).

Mekanik ventilasyon uygulanan ve uygulanmayan hastalar arasında sağ kalım açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Yirmisekizinci günde mekanik ventilasyon uygulananlarda sağ kalım hızı %53,6 iken, mekanik ventilasyon uygulanmayanlarda %87,2 olarak bulunmuştur (Long Rank: 4.539 $p=0.033$).

CMV reaktivasyonu olan ve olmayan hastalar arasında sağ kalım açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Yirmisekizinci gün sonunda CMV reaktivasyonu olan hastalarda sağ kalım hızı %50 iken, reaktivasyon olmayan hastalarda %63,7 olarak bulunmuştur (Long Rank: 0.762 $p=0.383$).

EBV reaktivasyonu olan ve olmayan hastalar arasında sağ kalım açısından anlamlı fark saptanmamıştır. 28'inci gün sonunda EBV reaktivasyonu olan hastalarda sağ kalım hızı %64,3 iken, reaktivasyon olmayan hastalarda %62,5 olarak bulunmuştur (Long Rank: 0.033 $p=0.856$).

CMV reaktivasyonu olan hastalarda reaktivasyonun; ateş, anemi, mekanik ventilasyon, kan transfüzyonu, hastane enfeksiyonu ve komorbid hastalıkların sayısı monosit-lenfosit yüzdeleri ve hsCRP düzeyleri gibi faktörlerle olan ilişkisi değerlendirildi.

CMV reaktivasyonu olan grupta median lenfosit oranı kanda %8,2 (Minimum: %7 Maksimum: %14,1) iken CMV reaktivasyonu olmayan grupta %10,3 (Minimum: %1,6 Maksimum: %48,2) olarak tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.370$).

CMV reaktivasyonu olan grupta median monosit oranı kanda %7,6 (Minimum: %1 Maksimum: %11,10) iken CMV reaktivasyonu olmayan grupta %6,7 (Minimum: %1 Maksimum: %31,70) olarak tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.640$).

Ateşi olmayan hastalarda %4,3 olan CMV reaktivasyonu ateşi olan hastalarda %10,3 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.379$).

Anemisi olmayan hastalarda CMV reaktivasyonu görülmezken anemisi

olan hastalarda %9,3 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.327$).

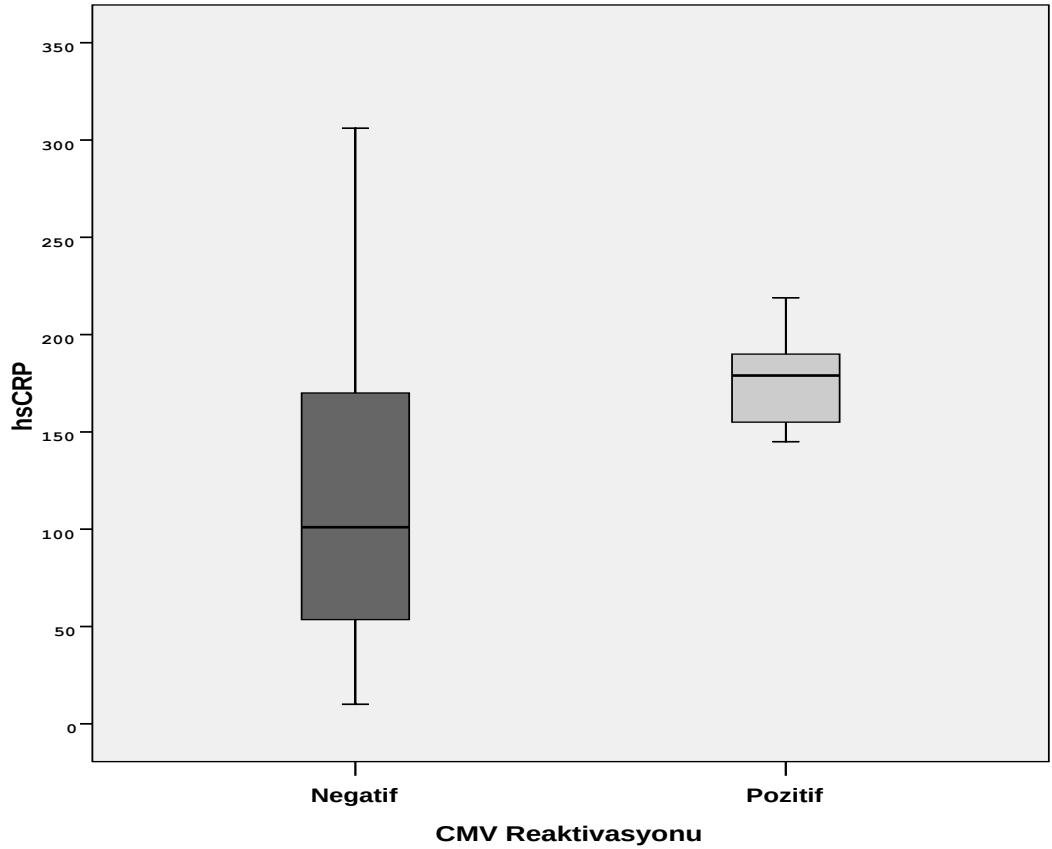
Mekanik ventilasyon uygulanmayan hastalarda %10 olan CMV reaktivasyonu mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda %7,5 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.741$).

Kan transfüzyonu yapılmayan hastalarda CMV reaktivasyonu saptanamazken kan transfüzyonu yapılan hastalarda %11,9 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.126$).

Hastane enfeksiyonu oluşmayan hastalarda %3,7 olan CMV reaktivasyonu hastane enfeksiyonu oluşan hastalarda %12,1 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.241$).

Komorbit hastalığı olmayan hastalarda %4,8 olan CMV reaktivasyonu, bir komorbit hastalığı olan hastalarda %12,5, iki komorbit hastalığı olan hastalarda %18,2, üç komorbit hastalığı olan hastalarda %0 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.362$).

CMV reaktivasyonu olan grupta median hsCRP değeri 179 mg/L (Minimum: 145 mg/L Maksimum: 219 mg/L) iken CMV reaktivasyonu olmayan grupta 101 (Minimum: 10 mg/L Maksimum: 306 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.037$). CMV reaktivasyonu olan ve olmayan hastaların median HsCRP değerleri ile ilgili grafik şekil 4.1. de gösterilmiştir.

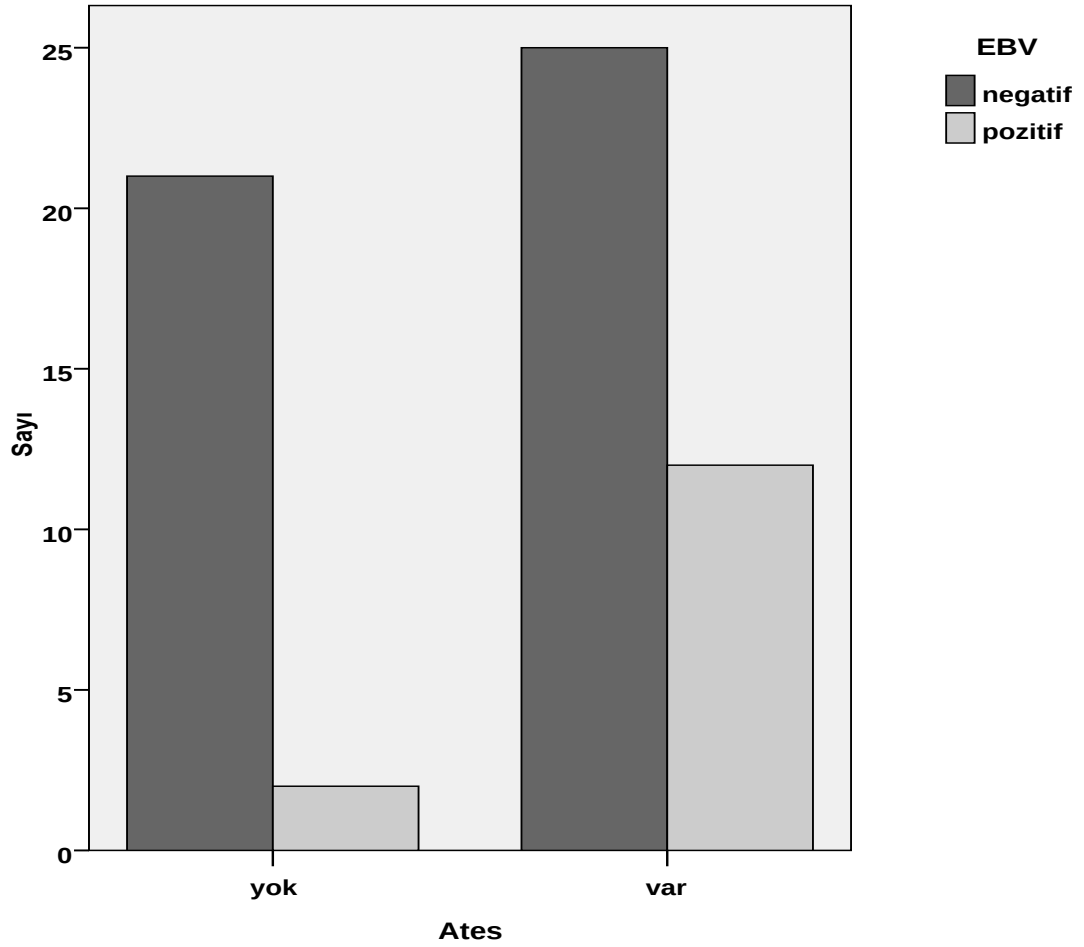


Şekil 4.1. CMV reaktivasyonu olan ve olmayan hastaların median HsCRP değerleri

EBV reaktivasyonu olan hastalarda reaktivasyonun ateş, anemi, mekanik ventilasyon, kan transfüzyonu, hastane enfeksiyonu ve komorbid hastalıkların sayısı gibi faktörlerle ilişkisi değerlendirildi.

Anemisi olmayan hastalarda %22,2 olan EBV reaktivasyonu anemisi olan hastalarda %23,5 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=1.00$).

Ateşi olmayan hastalarda %8,7 olan EBV reaktivasyonu ateşi olan hastalarda %32,4 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.035$). (Şekil: 4.2.)

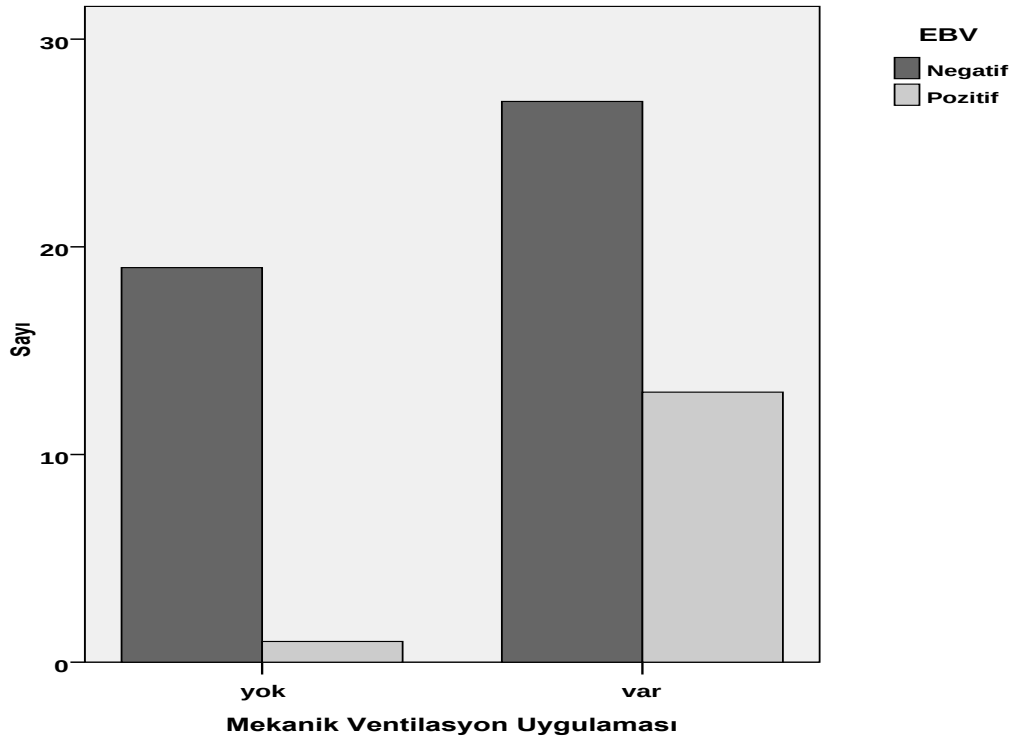


Şekil 4.2. Ateş ve EBV reaktivasyonu ilişkisi

Kan transfüzyonu yapılmayan hastalarda %11,1 olan EBV reaktivasyonu kan transfüzyonu yapılan hastalarda %28,6 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.192$).

Hastane enfeksiyonu gelişmeyen hastalarda %14,8 olan EBV reaktivasyonu hastane enfeksiyonu gelişen hastalarda %30,3 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.158$).

Mekanik ventilasyon uygulanmayan hastalarda %5 olan EBV reaktivasyonu mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda %32,5 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmuştur ($p=0.023$). (Şekil: 4.3.)



Şekil 4.3. Mekanik ventilasyon ve EBV reaktivasyonu ilişkisi

Komorbit hastalığı olmayan hastalarda %19 olan EBV reaktivasyonu, bir komorbit hastalığı olan hastalarda %12,5, iki komorbit hastalığı olan hastalarda %36,4, üç komorbit hastalığı olan hastalarda %33,3 olarak tespit edilmiş olup istatistiksel açıdan anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.395$)

EBV reaktivasyonu olan grupta median lenfosit oranı kanda %9,15 (Minimum: %1,6 Maksimum: %24,5) iken EBV reaktivasyonu olmayan grupta %10,8 (Minimum: %3,7 Maksimum: %48,2) olarak tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.341$).

EBV reaktivasyonu olan grupta median monosit oranı kanda %6,95 (Minimum: %1 Maksimum: %17,1) iken EBV reaktivasyonu olmayan grupta %6,85 (Minimum: %1 Maksimum: %31,7) olarak tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.889$)

EBV reaktivasyonu olan grupta median hsCRP değeri 155 mg/L (Minimum: 27 mg/L Maksimum: 306 mg/L) iken EBV reaktivasyonu olmayan grupta 105 mg/L (Minimum: 10 mg/L Maksimum: 227 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.09$)

4.3. Polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları

PZR yöntemi ile hastaların tam kan örneklerinde CMV DNA ve EBV DNA ile idrar örneklerinde CMV DNA araştırıldı. PZR yöntemi ile hastaların 28 günlük takipleri süresince bir hastada kanda, dört hastada ise idrarda olmak üzere toplam beş (%8,3) hastada CMV DNA pozitif olarak tespit edildi. Hastaların 14 (%23,3)'ünde kanda EBV DNA pozitif olarak saptandı.



TARTIŞMA

Tıbbın ilerlemesi ile birlikte yoğun bakımlarda takip edilen kritik hastalarda yaşam süresi artmakta, uzamış yatış süresine bağlı olarak birçok komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır. Yoğun bakım ünitelerini kapsayan çok merkezli bir çalışmada, yoğun bakım hastalarının %60'ında enfeksiyon geliştiği ve enfeksiyonun mortalite açısından bağımsız ve güçlü bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir (92). Yoğun bakımlarda yatan hastalarda genellikle bakteriyel ve fungal kaynaklı enfeksiyonlar göz önünde bulundurulurken, hem tanı zorluğu hem de spesifik klinik belirti göstermemesinden dolayı viral enfeksiyonlar göz ardı edilebilmektedir. Yoğun bakıma yatış, yaş, hastalığın şiddeti, sepsis, yanık, travma, cerrahi, kullanılan ilaçlar ve yapılan invazif girişimler gibi birçok sebep strese neden olarak latentlik gösteren virüslerin reaktivasyonuna yol açabilmektedir (52).

HIV enfeksiyonu ve iyatrojenik olarak immün sistemi baskılanmış hastalarda CMV reaktivasyonu; ensefalit, kolit, retinit, pnömoni, hepatit ve greft rejeksiyonu gibi klinik tablolara neden olmaktadır (93). Uzun süre yoğun bakımlarda takip edilen immün sağlam hastaların CMV reaktivasyonu açısından risk altında olabileceği kabul edilmiştir. Bu konu ile ilişkili olarak çalışmalar yapılmasına rağmen reaktivasyonun mortaliteye etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir.

Çalışmamızda 28 günlük takiplerde CMV reaktivasyonu %8,3 olarak tespit edildi. Frantzeska ve diğ. (55) yaptığı çalışmada mekanik ventilasyon uygulanmış immün sağlam yoğun bakım hastalarında CMV reaktivasyonu %13,8 olarak bulunmuş fakat sağ kalım açısından kontrol grubu ile farklılık saptanmamıştır. Heininger ve diğ. (57) tarafından SAPS II skoru >41 olan immün sağlam yoğun bakım hastalarında aktif CMV enfeksiyonu %35,6 olarak tespit edilmiş ve bu hastalarda CMV olmayanlara göre mortalite daha yüksek bulunmuştur. CMV'nin pp65 antijeni tespiti yöntemi ile yapılan ve üç günden uzun süren açıklanamayan ateş olan immün sağlam yoğun bakım hastalarının %17'sinde CMV reaktivasyonu tespit edilmiş ve bu hastalarda kontrol grubuna göre mortalite daha yüksek bulunmuştur (54). Lutz von Müller ve diğ. (94) tarafından immün sağlam septik şoklu 25 hastanın değerlendirilmesinde sekiz hastada pp65 antijenemisi tespit edilmiş fakat

diğer hastalarla karşılaştırıldığında mortalite açısından anlamlı fark olmadığı belirtilmiştir (94). Yoğun bakımda takip edilen immün sağlam ve immün baskılanmış hastaların değerlendirildiği bir meta analizde, immün sağlam grupta CMV reaktivasyonu %17 olarak saptanmış ve reaktivasyon olanlarda mortalitenin arttığı ifade edilmiştir (95). Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde CMV reaktivasyonunun farklı merkez ve farklı hastalık gruplarında değişiklik gösterdiği görülmüştür. Hastaların yatış esnasındaki tanıları, immün sistemlerinin durumu, uygulanan tedaviler ve eşlik eden hastalıkları gibi birçok faktörün de CMV reaktivasyonuna etki etmesi muhtemeldir. Laboratuvar değerlendirmelerinde belirli bir standart olmaması ve kullanılan yöntemlerin farklılığı da bu sonuçlara etki etmektedir. Ayrıca CMV reaktivasyonunun mortaliteye etki edip etmediğini değerlendirmek için daha çok hasta ile uzun süreli çalışmalara ihtiyaç olduğu değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda 28 günlük takiplerde CMV reaktivasyonu olan hastalar ve reaktivasyon olmayan hastalar arasında sağ kalım açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Frantzeska ve diğ. (55) yaptığı çalışmada da immün sağlam mekanik ventilatörlü CMV reaktivasyonu olan hastalarda 28 günlük izlemde reaktivasyonun sağ kalım üzerinde olumsuz etki yapmadığı tespit edilmiştir. Walton ve diğ. (71) tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada immün sağlam sepsis hastalarında viral reaktivasyonlar değerlendirilmiş ve plazmada saptanabilir CMV düzeyi olan hastalarda olmayanlara göre 90 günlük mortalitenin anlamlı yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Yoğun bakımda takip edilen immün sağlam ve immün baskılanmış hastaların değerlendirildiği bir meta analizde, reaktivasyon mortalite ile ilişkili bulunmuştur (95). Mortalite CMV reaktivasyonuna bağlı olabileceği gibi, CMV'ye sebep olabilecek risk faktörlerinden dolayı da olabilir. Seçilen hasta gruplarının özellikleri, takip süreleri, hastalıkların şiddeti gibi faktörler mortalite açısından değişiklik göstermektedir. Bizim çalışmamızda farklı hasta gruplarının bir arada bulunmasının ve hasta sayısının az olmasının, reaktivasyonun daha düşük olarak ortaya çıkması ve dolayısıyla sağ kalım açısından diğer hastalarla fark oluşturmadığı kanaatine varılmıştır.

Çalışmamızda CMV reaktivasyonuna sebep olabileceği değerlendirilen bazı faktörler de değerlendirildi. Bu amaçla ateş, anemi, mekanik ventilasyon,

kan transfüzyonları, yoğun bakım yatışı süresince meydana gelen hastane enfeksiyonları, hsCRP değeri ve reaktivasyonun ortaya çıkış zamanı gibi durumlar irdelendi.

Çalışmamızda dört hastada yatışının yedinci gününde, bir hastada ise 14'üncü gününde CMV DNA pozitifliği saptadık. Kalil ve Florescu (96) tarafından yapılan değerlendirmede reaktivasyon hızının yoğun bakımda beş gün ve üzeri yatışlarda arttığı belirtilmiştir. CMV seropozitif 120 yoğun bakım hastasının değerlendirildiği bir çalışmada reaktivasyonun 3-57'nci günlerde meydana geldiği belirtilmiştir (56). Frantzeska ve diğ. (55) tarafından mekanik ventilasyonlu immün sağlam hastalarda yapılan değerlendirmede reaktivasyonun ortalama yedinci günde ortaya çıktığı fakat kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark olmadığı tespit edilmiştir. Reaktivasyon meydana gelme süreleri arasındaki farkın hastanın kliniği, immün sistem baskılanmasının şiddeti, eşlik eden hastalıkların durumu ve hastanede yatış süresinin uzaması ile ilişkili olabileceği değerlendirilmektedir.

Çalışmamıza dâhil edilen hastaların yakın zamanda hastane yatış öyküsü yoktu. Chiche ve diğ. (97) tarafından mekanik ventilatör uygulanmış immün sağlam yoğun bakım hastalarında yapılan çalışmada önceki hastane yatışının aktif CMV enfeksiyonu açısından bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir.

Çalışmamızda mekanik ventilasyon uygulanan ve uygulanmayan hastalar arasında reaktivasyon açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Farklı bir çalışmada mekanik ventilatör uygulanmış immün sağlam yoğun bakım hastalarında reaktivasyon anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (97). Osawa ve Singh (98) tarafından yapılan değerlendirmede mekanik ventilatör uygulamasının CMV reaktivasyonu açısından risk faktörü olduğu belirtilmiştir. İmmün sağlam septik şoklu hastalarda yapılan çalışmada aktif CMV enfeksiyonu geçirenlerde uzamış mekanik ventilasyon uygulamasının etkisi bildirilmiştir (94). İmmün sağlam ve 72 saatten fazla ateşi olan kritik hastalarla yapılan çok merkezli bir çalışmada uzamış mekanik ventilatör uygulaması ile CMV reaktivasyonu arasında ilişki tespit edilmiştir (54). Yunanistan'da yapılan bir çalışmada yoğun bakımda yatan mekanik ventilatöre bağlı immün sağlam hastalarda mekanik ventilasyon süresi ile CMV reaktivasyonu

arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (55). CMV reaktivasyonu ve mekanik ventilasyon ilişkisini incelediğimizde hastanın klinik durumu, organ yetmezliği, sepsis olup olmaması ve mekanik ventilasyon süresinin reaktivasyon gelişiminde rol oynadığı söylenebilir. Uzun süreli mekanik ventilatör uygulamasının hastane enfeksiyonu oluşturarak reaktivasyona katkı sağlayabileceği de değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda anemisi olan ve olmayan hastalarda CMV reaktivasyonu açısından anlamlı fark bulunmamıştır. İmmün sağlam ve 72 saatten uzun ateşi olan kritik hastalarla yapılan çok merkezli bir çalışmada CMV reaktivasyonu olan grup ile olmayan grup arasında hemoglobin seviyeleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır (54).

Çalışmamızda kan transfüzyonu yapılan ve yapılmayan hastalar arasında CMV reaktivasyonu açısından anlamlı fark bulunmadı. Chiche ve diğ. (97) tarafından mekanik ventilatör uygulanmış immün sağlam yoğun bakım hastalarında yapılan çalışmada kan transfüzyonunun aktif CMV enfeksiyonu gelişiminde risk faktörü olduğu belirtilmiştir. Limaye ve diğ. (56) tarafından 2004-2006 yılları arasında Amerika’da CMV seropozitif 120 immün sağlam yoğun bakım hastasının izleminde ise kan transfüzyonu ile CMV reaktivasyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Yunanistan’da yapılan bir çalışmada yoğun bakımda yatan mekanik ventilatöre bağlı immün sağlam hastalarda kan transfüzyonu sayısının CMV reaktivasyonu için bağımsız risk faktörü olduğu belirtilmiştir (55). Toplumdaki yaygınlığı ve latentlik özelliği göstermesinden dolayı donör kanlarında rutin CMV taraması yapılmamaktadır Yoğun bakımlarda genellikle toplum ortalamasından daha yaşlı hastaların takip edilmesi ve yaşla birlikte CMV seropozitifliğinin artması nedeni ile kan transfüzyonunun immün sağlam hastalarda CMV reaktivasyonuna neden olma ihtimali düşüktür. Yapılan bir meta analizde lökositleri azaltılmış kan ürünlerinin kullanılmasının transfüzyon sonucu oluşabilecek CMV enfeksiyonlarını önlemede etkili olacağı değerlendirilmiştir (99). Seronegatif hastalar için lökositleri azaltılmış kan ürünlerinin kullanılması önlem olarak gözükse de riski tamamen ortadan kaldırmayacaktır.

Çalışmamızda hastaların takipleri süresinde hastane enfeksiyonu geçiren ve geçirmeyen hastalar arasında CMV reaktivasyonu açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi. Jaber ve diğ. (54) tarafından yapılan ve üç günden uzun süren açıklanamayan ateş olan immün sağlam yoğun bakım hastalarında yapılan değerlendirmede hastane enfeksiyonları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Heininger ve diğ. (57) tarafından yapılan bir çalışmada immün sağlam, CMV IgG seropozitif ve SAPS II skoru >41 üzerinde olan 56 yoğun bakım hastasının izleminde sepsisin bağımsız olarak aktif CMV enfeksiyonu ile ilişkisi belirtilmiştir. Kalil ve Florescu (96) tarafından yapılan çalışmada ağır sepsiste CMV reaktivasyon oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamızdaki hasta sayısının azlığı ve CMV reaktivasyon oranının düşük olmasından dolayı hastane enfeksiyonu ve sepsisle olan ilişkisi yeterli düzeyde değerlendirilememiştir. Ayrıca çalışmamız farklı hasta gruplarından oluştuğu için özelleşmiş hasta gruplarında yapılmasının daha uygun olacağı değerlendirilmektedir. Sepsisin immün sistemi baskılamadaki rolü göz önüne alındığında yalnızca sepsis veya hastane enfeksiyonu olan immün sağlam yoğun bakım hastalarında CMV reaktivasyonunun değerlendirilmesi daha sağlıklı sonuçlar verebilecektir.

Çalışmamızda CMV reaktivasyonu olan grupta median hsCRP değeri reaktivasyon görülmeyen gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.037$). Frantzeska ve diğ. (55) tarafından yoğun bakımda takip edilen immün sağlam mekanik ventilatörlü hastalarda CRP ve IL-10 seviyesi ile reaktivasyon arasında bir ilişki bulunmuş ve reaktivasyonun enflamasyonun şiddeti ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir.

Bazı çalışmalarda bizim çalışmamızda değerlendirilmeyen fakat CMV reaktivasyonu açısından risk faktörü olabilecek durumlar araştırılmıştır. Chiche ve diğ. (97) tarafından iki günden fazla mekanik ventilatöre bağlı hastalarda yapılan çalışmada steroid kullanımı ve enteral beslenmenin CMV reaktivasyonunu anlamlı şekilde arttırdığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak yoğun bakımda kalış süresi, mekanik ventilasyon uygulanması, kan ürünü kullanımı, sepsis, hastane enfeksiyonları, hastalığın şiddeti gibi birçok faktör CMV reaktivasyonunda rol oynayabilmektedir. Fakat

hastaların çalışmalara dâhil edilme kriterleri ve takip edildikleri süreler reaktivasyonun oluşup oluşmamasında belirleyici olmaktadır. Ayrıca immün sağlam hastalarda reaktivasyonun mortaliteye etkisi açık olmadığından tedavi verilmesi tartışmalıdır. İmmün sağlam hastalarda bu konuda çalışmalar yaygın değildir. Antiviral ilaçların yan etkileri göz önünde bulundurulduğunda, antiviral tedavi klinik gözlem ve hastaya ait risk faktörleri değerlendirilerek planlanmalıdır (52). Klinisyenlere düşen görev yoğun bakımlarda yatan immün sağlam hastalarda immün sistemin birçok faktörle baskılanmasına bağlı olarak CMV reaktivasyonunun ortaya çıkabileceğinin göz önünde bulundurmasıdır.

Yoğun bakım hastalarında CMV ve diğer Herpes virüslerinin reaktivasyonuna ilişkin birçok çalışma olmasına rağmen, EBV reaktivasyonu ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. EBV'nin de latent bir virüs olmasından dolayı yoğun bakımlarda yatış esnasında çeşitli faktörlere bağlı olarak reaktif olabilmemesi mümkün gözükmemektedir. EBV'nin immün baskılanmış hastalardaki rolü iyi belirlenmiş olmasına rağmen yakın zamanda farklı gruplarda yapılan çalışmalarda immün sağlam bireylerde de reaktif olabileceği gösterilmiştir.

Çalışmamızda EBV reaktivasyonuna sebep olabileceği değerlendirildiğimiz bazı faktörler de irdelendi. Hastalarda ateş, anemi, mekanik ventilasyon uygulaması, kan transfüzyonu, hastane enfeksiyonları ve reaktivasyonun ortaya çıkış zamanı gibi durumların reaktivasyonla ilişkisi irdelendi.

Çalışmamızda 28 günlük takiplerde EBV reaktivasyonu %23,3 olarak tespit edilmiştir. Coşkun ve diğ. (68) askere yeni alınan immün sağlam 100 kişide yaptığı çalışmada bir ay sonunda EBV reaktivasyonunu %7,4 olarak saptamış ve reaktivasyon saptanan hastaların kortizol ve epinefrin değerlerini diğerlerine göre daha yüksek tespit edilmiştir. Astronotlarla yapılan bir çalışmada ise 32 astronotun uçuş öncesi, uçuş sırasında ve uçuş sonrası yapılan tükürük EBV DNA değerlendirmesinde 1398 örneğin 314'ünde (%23) EBV DNA pozitif saptanırken, kontrol grubunda bu oran %3,7 saptanmıştır. EBV DNA miktarının uçuş sırasındaki ortalama değeri ile üriner kortizol ve katekolamin değerleri uçuş öncesi ve uçuş sonrasına göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (100). Uganda'da yapılan bir çalışmada malarya tanısı

alan çocukların %31'inde plazmada, %79'unda tükürükte EBV DNA tespit edilmiş ve tedaviden sonra hastaların %85'inde EBV DNA plazmadan temizlenmiştir. Hastaların tedavi almadan önceki EBV DNA düzeyleri ile kontrol grubu arasında önemli fark tespit edilmiştir (101). Libert ve diğ. (72) tarafından yoğun bakımda beş gün ve daha fazla kalan immün sağlam hastalarda kan EBV DNA düzeyi ölçülerek reaktivasyon değerlendirilmiş ve EBV seropozitif 86 hastanın 61'inde (%70,9) viral reaktivasyon tespit edilmiştir. Sepsisli hastalarda viral reaktivasyonun değerlendirildiği çok merkezli bir çalışmada hastaların %53,2'sinde kan EBV viral yükü pozitif olarak tespit edilmiştir (71). Almanya'da yapılan bir çalışmada yoğun bakımlarda klinik olarak pnömoni şüphesi olan hastaların bronkoalveoler lavaj sıvısında yapılan değerlendirmede 135 hastanın 48'inde (%35,6) EBV DNA pozitif tespit edilmiştir (102). İmmün sağlam hasta gruplarında EBV reaktivasyonu ile ilgili çalışmalar az sayıda olsa da farklı merkez ve hasta gruplarında reaktivasyon oranı değişiklik göstermektedir. Bu oranların hastanın yattığı yer, asıl hastalığı, hastalığının şiddeti, eşlik eden hastalıkların sayısı, hastanede yatış süresi, uygulanan tedaviler gibi birçok faktörden etkilenmesi muhtemeldir. Ayrıca uygulanan tanı yöntemleri ve laboratuvar kitlerinin farklılığı da bu oranlara etki edebilecektir. Farklı hasta gruplarında ve daha fazla hasta ile yapılacak çalışmalar EBV reaktivasyonu oranı açısından daha sağlıklı bilgi verebilecektir.

Çalışmamızda 28 günlük takiplerde EBV reaktivasyonu olan ve olmayan hastalar arasında sağ kalım açısından anlamlı fark bulunmadı. Libert ve diğ. (72) tarafından yoğun bakımda 5 gün ve daha uzun kalan immün sağlam hastaların değerlendirmesinde EBV reaktivasyonu olan hastalarda mortalite daha yüksek bulunmuştur. Walton ve diğ. (71) tarafından sepsisli hastalarda EBV reaktivasyonunun incelendiği çok merkezli çalışmada kanda EBV DNA pozitif tespit edilen hastalara ait 90 günlük mortalitenin, negatif olanlara göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Farklı merkez ve hasta gruplarında mortalite oranları farklılık göstermektedir. Mevcut çalışmalar ile EBV reaktivasyon oranı ile mortalite arasında kesin bir ilişki kurmak mümkün değildir. Mortalite EBV reaktivasyonuna bağlı olabileceği gibi, EBV'ye sebep olabilecek risk faktörlerinden de kaynaklanıyor

olabilir. EBV'nin latent bir virüs olması, sağlıklı insanların çeşitli vücut örneklerinde tespit edilebilmesi yoğun bakım hastalarında reaktivasyonun mortalite ile ilişkisini açıklamada yetersiz kalmaktadır. Sousa ve diğ. (103) tarafından yapılan bir çalışmada sağlıklı bireylerin kanlarında %37,2'sinin kan örneklerinde EBV DNA pozitifliği saptanmıştır. Sağlıklı insanlarda da viremi saptanması, EBV viral yükü ile hastalık şiddeti arasında ilişki kurulmasını zorlaştırmaktadır. Ayrıca yoğun bakımda uzun süreli yatma bir stres faktörü olmakta ve hastalıktan bağımsız olarak viral reaktivasyona yol açabilmektedir. EBV reaktivasyonunun mortalite ile olan ilişkisini belirlemek için daha uzun süreli, belirli yaş ve gruplardan oluşan daha fazla sayıda hasta ile araştırmalar yapılması gerektiği değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda tüm hastalarda yedinci gün örneklerinde EBV reaktivasyonu tespit edildi. Libert ve diğ. (72) tarafından yoğun bakımda beş gün ve daha uzun kalan immün sağlam hastaların değerlendirmesinde EBV DNA pozitifleşmesi için geçen süre ortalama 7,5 gün olarak tespit edilmiştir. Walton ve diğ. (71) tarafından sepsisli hastalarda EBV reaktivasyonunun incelendiği çok merkezli çalışmada yoğun bakımda kalış süresinin uzaması durumunda belirgin olarak EBV reaktivasyonu sıklığının arttığı tespit edilmiştir. Friedrichs ve diğ. (102) tarafından yoğun bakımlarda klinik olarak pnömoni şüphesi olan hastaların bronkoalveoler lavaj sıvısında yapılan değerlendirmede EBV DNA pozitifliği olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında; yoğun bakım kalış süresi açısından fark saptanmamıştır. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde reaktivasyonun ortaya çıkış zamanı değişkenlik göstermektedir. Asıl hastalığın tanısı ve şiddeti, uygulanan tedaviler, hastane enfeksiyonları, eşlik eden hastalıklar ve hastalara yapılan girişimlerin reaktivasyonun ortaya çıkmasına etki edeceği değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda anemisi olan ve olmayan hastalar arasında EBV reaktivasyonu açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Yapılan farklı çalışmalarda da anemi risk faktörü olarak gösterilmemiştir (71, 72, 103).

Çalışmamızda 28 günlük takiplerde ateşi olan hastalarda EBV reaktivasyonu, ateşi olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.035$). EM klinik olarak orta ve yüksek ateş ile seyretmektedir (104).

Laupland ve diğ. (105) tarafından yoğun bakımlarda yatan hastaların değerlendirildiği retrospektif bir çalışmada enfeksiyon ve diğer durumlara bağlı olarak %70 oranında ateş olduğu ve ateş $>39.5^{\circ}\text{C}$ olan hastalarda mortalitenin arttığı belirtilmiştir. Yoğun bakım hastalarında enfeksiyon ve enfeksiyon dışı birçok nedene bağlı olarak ateş gelişebilmektedir. Bakteremi, ventilatör ile ilişkili pnömoni, intravasküler kateter ilişkili enfeksiyonlar, üriner kateter ilişkili enfeksiyonlar ve cerrahi alan enfeksiyonları ateşe neden olan enfeksiyöz etkenlerin başında gelmektedir (106). Bu durumların ekarte edildiği hastalarda viral reaktivasyon açısından hastaların değerlendirilmesi uygun olacaktır.

Çalışmamızda mekanik ventilatör uygulanmış hastalardaki EBV reaktivasyonu, uygulanmamış hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0.023$). Libert ve diğ. (72) tarafından immün sağlam yoğun bakım hastalarında yapılan çalışmada mekanik ventilasyon uygulama süresi ile EBV reaktivasyonu arasında ilişki tespit edilmiştir. Friedrichs ve diğ. (102) tarafından yoğun bakımlarda klinik olarak pnömoni şüphesi olan hastaların bronkoalveoler lavaj sıvısında yapılan değerlendirmede uzamış mekanik ventilasyon süresi ile EBV ve diğer herpesvirüsler'in tespiti arasında ilişki tespit edilmiştir. Literatürde mekanik ventilasyon uygulaması ve viral reaktivasyon arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla daha çok Herpes Simpleks Virüs ve CMV ile ilgili çalışmalar dikkat çekmektedir. CMV reaktivasyonu ve mekanik ventilasyon uygulaması arasında ilişkiyi gösteren birçok çalışma vardır (54, 94, 97, 98). Luyt ve diğ. (107) tarafından yapılan bir çalışmada mekanik ventilatör uygulaması ile HSV reaktivasyonu arasında ilişki tespit edilmiş ve kötü klinik sonuçla uyumlu bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde mekanik ventilasyon uygulamasının EBV reaktivasyonu açısından risk faktörü olabileceği değerlendirilmektedir. Çalışmamızda EBV reaktivasyonu olan ve olmayanlar arasında 28 günlük izlemde sağ kalım açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. EBV reaktivasyonu saptanan mekanik ventilatör uygulanmış hastalarda sağ kalımla olan ilişkiyi daha sağlıklı tespit edebilmek için, yoğun bakımda yatmaya devam eden hastaları daha uzun süre izlemek uygun olacaktır. Yine yoğun bakımlarda yatan ve immün sağlam mekanik ventilatör uygulanmış

hasta grubunda reaktivasyon açısından çalışma yapılması daha sağlıklı sonuçlar verebilecektir.

Çalışmamızda EBV reaktivasyonu olan ve olmayan hastalar arasında hsCRP değerleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Walton ve diğ. (71) tarafından sepsisli hastalarda EBV reaktivasyonunun incelendiği çok merkezli çalışmada viremi, yüksek SOFA (Sequential Organ Failure Assessment Score) skoru ile ilişkili bulunmuştur. Friedrichs ve diğ. (102) tarafından yoğun bakımlarda yatan hastaların bronkoalveoler lavaj örneklerinin incelendiği çalışmada EBV pozitif olanlarda interlökin-6 düzeylerinin, olmayanlara göre anlamlı olarak yüksek saptandığı tespit edilmiştir. Libert ve diğ. (72) tarafından immün sağlam yoğun bakım hastalarında yapılan çalışmada EBV reaktivasyonu olan ve olmayan hastalar arasında SAPS II skorları açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Bizim çalışmamızda bir inflamasyon belirteci olan hsCRP düzeyleri ile reaktivasyon arasında bir ilişki saptanmasa da hastalığın şiddetini gösteren CRP, prokalsitonin, IL-10 ve TNF gibi diğer inflamatuvar belirteçlerin de rolü araştırılmalıdır. Yine yoğun bakım skorumu sistemlerinin beraber değerlendirildiği mukayeseli çalışmalar hastalığın şiddeti ile reaktivasyon arasındaki ilişki konusunda bize daha sağlıklı bilgi verebilecektir.

Çalışmamızda kan transfüzyonu ile EBV reaktivasyonu arasında bir ilişki saptanmadı. Libert ve diğ. (72) tarafından immün sağlam yoğun bakım hastalarında yapılan çalışmada kan transfüzyonu ile EBV reaktivasyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır. Toplumdaki yaygınlığı ve latentlik özelliği nedeni ile donör kanlarında rutin EBV taraması yapılmamaktadır. Lökositler arındırılmış kan bileşenlerinin kullanılması EBV ve CMV geçişini önemli ölçüde azaltmaktadır (108). İmmün sağlam hastalara yapılacak transfüzyonlarda EBV'nin toplumdaki yaygınlığı, göz önünde bulundurulmalıdır. EBV'ye maruziyeti daha düşük olan çocuk ve genç hastalarda bu işlemin yapılmasının uygun olacağı değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda hastaların takipleri süresince hastane enfeksiyonu gelişen ve gelişmeyen hastalar arasında EBV reaktivasyonu açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi. Walton ve diğ. (71) tarafından sepsisli hastalarda EBV reaktivasyonunun incelendiği çok merkezli çalışmada

sekonder fungal enfeksiyon ve fırsatçı bakteriyel enfeksiyon oluşması durumunda viral reaktivasyonun daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Hastane enfeksiyonu oluşma oranının yoğun bakımda kalış süresi ile arttığını göz önünde bulundurduğumuzda viral reaktivasyon ile hastane enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilmek için hastaların daha uzun süre takip edilmesi gerektiği değerlendirilmektedir.



SONUÇ VE ÖNERİLER

CMV ve EBV latent özellik gösteren, immün sistemi baskılanmış hastalarda oluşturduğu etkileri iyi tanımlanmış virüsler olup immün sağlam hastalarda da çeşitli sistemleri tutabilmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde takip edilen immün sağlam hastalarda birçok faktöre bağlı olarak reaktivasyon oluşabilmektedir.

Çalışmamızda CMV reaktivasyonu %8,3 (tam kan ve idrarda), EBV reaktivasyonu ise %23,3 (tam kanda) olarak tespit edilmiştir.

Yirmisekiz günlük takiplerde CMV ve EBV reaktivasyonu tespit edilen ve edilmeyen hastalar karşılaştırıldığında sağ kalım açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

CMV reaktivasyonu olan hastalardaki hsCRP düzeyi, CMV reaktivasyonu olmayanlara göre anlamlı yüksek tespit edilmiştir ($p=0.037$). Mekanik ventilasyon uygulaması olan hastalardaki EBV reaktivasyonu, uygulanmamış hastalara göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir ($p=0.023$). Takiplerinde ateşi olan hastalardaki EBV reaktivasyonu olmayanlara göre anlamlı yüksek tespit edilmiştir ($p=0.035$).

Çalışmamızdaki hasta sayısının azlığı, hastaların immün sağlam olmasına rağmen özel bir hasta grubunda yapılmaması, takip süresinin 28 günle sınırlandırılması ve reaktivasyonun serolojik olarak değerlendirilmemesinin sonuçları etkileyebileceği değerlendirilmektedir.

Viral reaktivasyonun sepsis, travma, yanık gibi özel hasta gruplarında araştırılmasının ve takip sürelerinin uzun tutulmasının sağ kalım ve risk faktörlerinin tespiti için daha uygun olacağı değerlendirilmektedir. PZR'nin yanında viral kültür ve antijen testlerinin de karşılaştırmalı olarak farklı vücut örneklerinde araştırıldığı çalışmalar, viral reaktivasyonun hastanın kliniği ile olan ilişkisini daha iyi açıklayabilecektir.

Sonuç olarak yoğun ünitelerinde yatarken uygun medikal tedaviye rağmen ateşi devam eden, enfeksiyon odağı tespit edilemeyen, kültürlerinde üreme olmayan immün sağlam hastalarda viral etkenler de akılda bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. McGavran, MH., Smith MG., Ultrastructural, cytochemical, and microchemical observations on cytomegalovirus (salivary gland virus) infection of human cells in tissue culture. *Exp Mol Pathol.* 76:1-10, 1965.
2. Chen, DH., Jiang H., Lee M., Liu F., Zhou ZH., Three dimensional visualization of tegument/capsid epidemiology and treatment. Interactions in the intact human cytomegalovirus. *Virology.* 260:10-6, 1999.
3. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R., Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 1586-96, 2000.
4. Topçu, AW., Söyletir, G., Doğanay, M., Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi III. Baskı Nobel Tıp Kitabevleri s.1672, 2008.
5. Evans, AS., Niederman, JC., McCollum, RW., Seroepidemiologic studies of infectious mononucleosis with EB virus. *N Engl. J Med.* Nov 21;279(21):1121-7, 1968.
6. Topçu, AW., Söyletir, G., Doğanay, M., Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi III. Baskı Nobel Tıp Kitabevleri s. 1681-1682, 2008.
7. Pritchett, RF., Hayward, SD., Kieff ED., DNA of Epstein-Barr virus. I. Comparative studies of the DNA of Epstein-Barr virus from HR-1 and B95-8 cells: size, structure, and relatedness. *J. Virol.* 15(3):556, 1975.
8. Bornkamm, GW., Delius, H., Zimber U., Hudewentz J., Epstein MA. Comparison of Epstein-Barr virus strains of different origin by analysis of the viral DNAs. *J. Virol.* 35(3):603, 1980.
9. Dambaugh, T., Hennessy K., Chamnankit L., Kieff E. U2 region of Epstein-Barr virus DNA may encode Epstein-Barr nuclear antigen 2. *Proc Natl Acad Sci USA.* ;81(23):7632 1984
10. Nicholas, J., Cameron, KR., Coleman, H., Newman, C., Honess RW Analysis of nucleotide sequence of the rightmost 43 kbp of herpesvirus saimiri (HVS) L-DNA: general conservation of genetic organization between HVS and Epstein-Barr virüs. *Virology.* 188(1):296,1992.
11. Plachter, B., Sinzger, C., Jahn, G., Cell types involved in replication

and distribution of human cytomegalovirus. *Adv Virus Res.* 46: 195-261, 1996.

12. Murray, PR., Rosenthal, KS., Pfaller MA., Çev. Ed. Başustaoğlu, AC., İnsan Herpesvirüsleri, Tıbbi Mikrobiyoloji VI. Baskı. Ankara Atlas Kitapçılık s.517-537, 2010.

13. Gahn, TA., Schildkraut, CL., The Epstein-Barr virus origin of plasmid replication, oriP, contains both the initiation and termination sites of DNA replication. *Cell.* 58(3):527, 1989.

14. Bornkamm, GW., Hudewentz, J., Freese, UK., Zimmer, U., Deletion of the nontransforming Epstein-Barr virus strain P3HR-1 causes fusion of the large internal repeat to the DSL region. *J Virol.* 43(3):952, 1982.

15. Rowe, M., Peng-Pilon, M., Huen, DS., Hardy, R., Croom-Carter, D., Lundgren, E., Rickinson, AB., Upregulation of bcl-2 by the Epstein-Barr virus latent membrane protein LMP1: a B-cell-specific response that is delayed relative to NF-kappa B activation and to induction of cell surface markers. *J Virol.* 68(9):5602, 1994.

16. Longnecker, R., Druker, B., Roberts, TM., Kieff, E., An Epstein-Barr virus protein associated with cell growth transformation interacts with a tyrosine kinase. *J Virol.* 65(7):3681, 1991.

17. Burkhardt, AL., Bolen, JB., Kieff, E., Longnecker, R., An Epstein-Barr virus transformation-associated membrane protein interacts with src family tyrosine kinases. *J Virol.* 66(8):5161, 1992.

18. Sinclair, J., Human cytomegalovirus: latency and reactivation in the myeloid lineage. *J Clin Virol*; 41: 180-185, 2008.

19. Hummel, M ve Abecassis, MM., A model for reactivation of CMV from latency. *Virol* 25: s123 *J Clin*136, 2002.

20. Rennekampff, HO ve Hemprecht, K., Cytomegalovirus infection in burns: a review. *J of Med Microbiol* 55: 483-487, 2006.

21. MCGuedes, MI., Risdahl, JM., Wiseman, B., Molitor TW., Reactivation of porcine cytomegalovirus through allogeneic stimulation. *J Clin Microbiol.*

42: 1756-1758, 2004.

22. Muller, LV., Klemn, A., Weiss, M., Schneider, M., Suger- Wiedeck, H., Durmus, N., Hampl, W., Mertens, T., Active cytomegalovirus infection in patients with septic shock. *Emerg Infect Dis.* 12: 1517-1522, 2006.

23. Grundy, JE., Virologic and pathogenetic aspects of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis.* 12: S 711-719, 1990.

24. Squizzato, A., Gerdes, VEA., Buller, HR., Effects of human cytomegalovirus infection on the coagulation system. *Thromb Haemost.* 93: 403-410, 2005.

25. Tselis, AC., Epstein-Barr virus infections of the nervous system *Handb Clin Neurol.* 123:285-305, 2014.

26. Hsu, DH., de Waal Malefyt, R., Fiorentino, DF., Dang, MN., Vieira, P., de Vries, J., Spits, H., Mosmann, TR., Moore, KW., Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1. *Science.* 250(4982):830, 1990.

27. Krech, U., Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the world. *Bull World Health Organ.* 49(1):103, 1973.

28. Bate, SL., Dollard, SC., Cannon, MJ., Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination surveys, 1988-2004. *Clin Infect Dis.* 50(11):1439, 2010.

29. Ho, M., Epidemiology of cytomegalovirus infections *Rev Infect Dis.* 2 Suppl 7:S701, 1990.

30. Bate, SL., Dollard, SC., Cannon, MJ., Cytomegalovirus seroprevalence in the United States: the national health and nutrition examination surveys, 1988-2004. *Clin Infect Dis.* 50(11):1439, 2010.

31. Ataman, Ş., Çolak, D., Günseren, F., Çolak, T., Şenol, Y., Aktekin, MR., Gültekin, M., *Mikrobiyol Bül.* 41: 545-555, 2007.

32. Hess, RD., Routine Epstein-Barr virus diagnostics the laboratory perspective: Still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol.* 42: 3381-7, 2004.

- 33.** Aydemir, Ş., Erensoy, S., Zeytinoğlu, A., Bilgiç, A., Epstein-Barr virüsü seroprevalansı: Bir alan çalışması [Özet]. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-9 Ekim 1998, Antalya) Kongre Kitabı'nda. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 04-53, 1998.
- 34.** Burkitt, DA., Children's cancer dependent on climatic factors. *Nature*. 194:232, 1962.
- 35.** Njie, R., Bell, Al., Jia, H., Croom-Carter, D., Chaganti, S., Hislop, AD., Whittle, H., Rickinson, AB., The effects of acute malaria on Epstein-Barr virus (EBV) load and EBV-specific T cell immunity in Gambian children. *J Infect Dis*. 199(1):31, 2009.
- 36.** Ho, JH., An epidemiologic and clinical study of nasopharyngeal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 4(3-4):182, 1978.
- 37.** Andersson-Anvret, M., Forsby, N., Klein, G., Henle, W., Relationship between the Epstein-Barr virus and undifferentiated nasopharyngeal carcinoma: correlated nucleic acid hybridization and histopathological *Int J Cancer*. 20(4):486, 1977.
- 38.** Jordan, MC., Rousseau, WE., Noble, GR., Steward, JA., Chin, TD., Association of cervical cytomegaloviruses with venereal disease. *N Engl J Med*. 288(18):932
- 39.** Preiksaitis, JK., Brown, L., McKenzie, M., The risk of cytomegalovirus infection in seronegative transfusion recipients not receiving exogenous immunosuppression. *J Infect Dis*. 157(3):523, 1988.
- 40.** Klemola, E., Von Essen, R., Henle, G., Henle, W., Infectious-mononucleosis-like disease with negative heterophil agglutination test. Clinical features in relation to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus antibodies. *J Infect Dis*. 121(6):608, 1970.
- 41.** Cohen, JI., Corey, GR., Cytomegalovirus infection in the normal host. *Medicine*. 64(2):100, 1985.
- 42.** Klemola, E., Hypersensitivity reactions to ampicillin in cytomegalovirus mononucleosis. *Scand J Infect Dis*. 2(1):29, 1970.

- 43.** Griffiths, PD., Burden of disease associated with human cytomegalovirus and prospects for elimination by universal immunisation. *Lancet Infect Dis.* 12: 790-798, 2012.
- 44.** Squizzato, A., Ageno, W., Cattaneo, A., Brumana, NA., Case report and literature review of portal vein thrombosis associated with cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clin Infect Dis.* 44(2):e13. 2007
- 45.** Clarke, J., Craig, RM., Saffro, R., Murphy, P., Yokoo, H., Cytomegalovirus granulomatous hepatitis. *Am J Med.* 66(2):264, 1979.
- 46.** Seo, TH., Kim, JH., Ko, SY., Hong, SN., Lee, SY., Sung, IK., Park, HS., Shim, CS., Han, HS., Cytomegalovirus colitis in immunocompetent patients: a clinical and endoscopic study. *Hepatogastroenterology.* Oct 59(119):2137-41, 2012.
- 47.** Friel, TJ. Epidemiology, clinical manifestations, and treatment of cytomegalovirus infection in immunocompetent adults In: UpToDate, Hirsch, MS (Ed). Waltham, MA. http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-clinical-manifestations-and-treatment-of-cytomegalovirus-infection-in-immunocompetent-adults?source=search_result&search=cmv&selectedTitle=1~150. [Erişim tarihi: 29 Mayıs 2015].
- 48.** Eddleston, M., Peacock, S., Juniper, M., Warrell, DA. Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. *Clin Infect Dis.* 24(1):52. 1997
- 49.** Orlikowski, D., Porcher R, Sivadon-Tardy V, Quincampoix JC, Raphaël JC, Durand MC, Sharshar T, Roussi J, Caudie C, Annane D, Rozenberg F, Leruez-Ville M, Gaillard JL, Gault E Guillain-Barré syndrome following primary cytomegalovirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 52(7):837. 2011.
- 50.** Tyler, KL., Gross RA., Cascino, GD., Unusual viral causes of transverse myelitis: hepatitis A virus and cytomegalovirus. *Neurology.* 36(6):855, 1986.
- 51.** Schönián, U., Crombach, M., Maser S., Maisch, B., Cytomegalovirus-

associated heart muscle disease. Eur Heart J. 16 Suppl O:46, 1995.

52. Jain, M., Duggal, S., Chugh, TD., Cytomegalovirus infection in non-immunosuppressed critically ill patients J Infect Dev Ctries. 5(8):571-579, 2011

53. Muller, LV., Klemm, A., Weiss, M., Schneider, M., Suger- Wiedeck, H., Durmus, N., Hampl, W., Mertens, T., Active cytomegalovirus infection in patients with septic shock. Emerg Infect Dis. 12: 1517-1522, 2006.

54. Jaber, S., Chanques, G., Borry, J., Souche, B., Verdier, R., Perrigault, PF., Eledjam, JJ., Cytomegalvirus infection in critically ill patients. Chest. 127: 233-241, 2005.

55. Frantzeskaki, FG., Karampi, ES., Kottaridi, C., Alepaki, M., Routsis, C., Tzanela, M., Cytomegalovirus reactivation in a general, nonimmunosuppressed intensive care unit population: Incidence, risk factors, associations with organ dysfunction, and inflammatory biomarkers. Journal of Critical Care. 30(2) :276-28, 2015.

56. Limaye, AP., Kirby, KA., Rubenfeld, GD., Leisenring, WM., Bulger, EM., Neff, MJ., Cytomegalovirus Reactivation in Critically Ill Immunocompetent Patients JAMA. 300(4):413-422, 2008.

57. Heininger, A., Gerhard, J., Corinna, E., Thomas Nm Klaus, U., Klaus, H., Human cytomegalovirus infections in nonimmunosuppressed critically ill patients. Crit Care Medicine. 29: 541-547, 2001.

58. Grose, C., The many phases of infectious mononucleosis; the spectrum of Epstein-Barr virus infection in children. Pediatr Rev. 7:35, 1985.

59. Haverkos, HW., Amsel, Z., Drotman, DP., Adverse virus-drug interactions. Rev Infect Dis. 13(4):697, 1991.

60. Triantos, D., Porter, SR., Scully, C., Teo, CG., Oral hairy leukoplakia: clinicopathologic features, pathogenesis, diagnosis, and clinical significance. Clin Infect Dis. 25(6):1392, 1997.

61. Aldrete, JS., Spontaneous rupture of the spleen in patients with infectious mononucleosis. Mayo Clin Proc. 67(9:9)10, 1992.

- 62.** Sullivan, JL., Woda, BA., Herrod, HG., Koh, G., Rivara, FP., Mulder, C., Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic syndrome: virological and immunopathological studies. *Blood*. 65(5):1097, 1985.
- 63.** Guinee, D Jr., Jaffe, E., Kingma, D., Fishback, N., Wallberg, K., Krishnan, J., Frizzera, G., Travis, W., Koss, M., Pulmonary lymphomatoid granulomatosis. Evidence for a proliferation of Epstein-Barr virus infected B-lymphocytes with a prominent T-cell component and vasculitis. *Am J Surg Pathol*. 18(8):753, 1994.
- 64.** Katzenstein, AL., Carrington, CB., Liebow, AA., Lymphomatoid granulomatosis: a clinicopathologic study of 152 cases. *Cancer*. 43(1):360, 1979.
- 65.** Nagy, N., Klein, E., Deficiency of the proapoptotic SAP function in X-linked lymphoproliferative disease aggravates Epstein-Barr virus (EBV) induced mononucleosis and promotes lymphoma development. *Immunol Lett*. 130: 13–18, 2010.
- 66.** Hanto, DW., Classification of Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative diseases: implications for understanding their pathogenesis and developing rational treatment strategies. *Annu Rev Med*. 46:381, 1995.
- 67.** Thorley-Lawson, DA., Gross, A., Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *N Engl J Med*. 350(13):1328, 2004.
- 68.** Coskun, O., Sener, K., Kilic, S., Erdem, H., Yaman, H., Besirbellioglu, AB., Stress-related Epstein-Barr virus reactivation. *Clin Exp Med*. 10:15-20, 2010.
- 69.** Pierson DL, Stowe RP, Phillips TM, Lugg DJ, Mehta SK. Epstein-Barr virus shedding by astronauts during space flight. *Brain Behav Immun* 19:235-42, 2005.
- 70.** Jochum, S., Moosmann, A., Lang, S., Hammerschmidt, W., Zeidler, R., The EBV immunoevasins vIL-10 and BNLF2a protect newly infected B cells from immune recognition and elimination. *PLoS Pathog* 8:e1002704, 2012.

- 71.** Walton, AH., Muenzer, JT., Rasche, D., Boomer, JS., Sato, B., ve ark. Reactivation of Multiple Viruses in Patients with Sepsis. PLoS ONE 9(6): e98819. 2014.
- 72.** Libert, N., Bigaillon, C., Chargari, C., Bensalah, M., Muller, V., Merat, S., Rudnicki, S., Epstein–Barr Virus Reactivation in Critically Ill Immunocompetent Patients J.Crit Care Jan.-Feb 30(2):276-28, 2015.
- 73.** Gleves, CA., Smith, TF., Shushter, EA ve Pearson, GR., Rapid Detection of Cytomegalovirus in MRC-5 Cells Inoculated with Urine Specimens by Using Low-Speed Centrifugation and Monoclonal Antibody to an Early Antigen. Journal of Clinical Microbiology. June p. 917-919, 1984.
- 74.** Razonable, RR., Hayden, RT., Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation Clin Microbiol Rev. 26(4):703, 2013.
- 75.** Lisboa, LF., Asberg, A., Kumar, D., Pang, X., Hartmann, A., Preiksaitis, JK., Pescovitz, MD., Rollag, H., Jardine, AG., Humar A., The clinical utility of whole blood versus plasma cytomegalovirus viral load assays for monitoring therapeutic response. Transplantation. Jan;91(2):231-6, 2011.
- 76.** Bek, B., Boeckh, M, Lepenies, J., Bieniek, B., Arasteh, K., Heise, W., High-level sensitivity of quantitative pp65 cytomegalovirus (CMV) antigenemia assay for diagnosis of CMV disease in AIDS patients and follow-up. J Clin Microbiol. 34(2):457, 1996.
- 77.** Schröder, R., Michelon, T., Fagundes, I., Bortolotto, A., Lammerhirt, E., Oliveira, J., Antigenemia for Cytomegalovirus in Renal Transplantation: Choosing a Cutoff For the Diagnosis Criteria in Cytomegalovirus Disease. Transplantation Proceedings. 37, 2781–2783, 2005.
- 78.** Kotton, CN., Kumar, D., Caliendo, AM., Asberg, A., Chou, S., Danziger-Isakov, L., Humar, A.. Transplantation Society International CMV Consensus Group Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. Transplantation. 96(4):333, 2013.

- 79.** Grasser, FA., Murray, PG., Kremmer, E., Klein, K., Remberger, K., Feiden, W., Reynolds, G., Niedobitek, G., Young, LS. ve Mueller-Lantzsch, N Monoclonal antibodies directed against the Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen 1 (EBNA1): immunohistologic detection of EBNA1 in the malignant cells of Hodgkin's disease Blood84:3792-3798, 1994.
- 80.** Niodebitek, G., Herbst, H., In situ detection of Epstein-Barr virus DNA and viral gene products. Methods Mol. Biol 174:79-91, 2001.
- 81.** Balfour, HH Jr., Odumade, OA., Schmeling, DO., Mullan, BD., Ed, JA., Knight, JA., Vezina, HE., Thomas, W., Hogquist, KA., Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students. J Infect Dis. 207(1):80, 2013
- 82.** Murray, PR., Baron, EJ., Jorgensen, JH., Landry, ML., Pfaller, MA., Çev. Ed. Başustaoğlu, AC., Epstein-Barr, Klinik Mikrobiyoloji IX. Baskı. Ankara Atlas Kitapçılık s.1564-1568, 2009.
- 83.** Evans, AS., Niederman, JC., Cenabre, LC., West, B., Richards, VA., A prospective evaluation of heterophile and Epstein-Barr virus-specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis: Specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. J Infect Dis. 132(5):546, 1975.
- 84.** Linderholm, M., Boman, J., Juto, P., Linde, A., Comparative evaluation of nine kits for rapid diagnosis of infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus-specific serology. J Clin Microbiol. 32(1):259, 1994.
- 85.** Tynell, E., Aurelius, E., Brandell, A., Julander, I., Wood, M., Yao, QY., Rickinson, A., Akerlund, B., Andersson, J., Acyclovir and prednisolone treatment of acute infectious mononucleosis: a multicenter, double-blind, placebo-controlled study. J Infect Dis. 174(2):324, 1996.
- 86.** Van der Horst, C., Joncas, J., Ahronheim, G., Gustafson, N., Stein, G., Gurwith, M., Fleisher, G., Sullivan, J., Sixbey, J., Roland, S., Lack of effect of peroral acyclovir for the treatment of acute infectious mononucleosis. J Infect Dis. 164(4):788, 1991.

- 87.** Wilson, WH., Kingma, DW., Raffeld, M., Wittes, RE., Jaffe, ES., Association of lymphomatoid granulomatosis with Epstein-Barr viral infection of B lymphocytes and response to interferon-alpha 2b. *Blood*. 87(11):4531, 1996.
- 88.** Epstein, MA., Morgan, AJ., Finerty, S., Randle, BJ., Kirkwood, JK., Protection of cottontop tamarins against Epstein-Barr virus-induced malignant lymphoma by a prototype subunit vaccine. *Nature*. 318(6043):287 1985
- 89.** Sahiner, F., Cekmez, F., Cetinkaya, M., Kaya, G., Kalayci, T., Guneş, O., Sener, K., Yapar, M., Tunc, T., Ecemis, T., Cekmez, Y., Kubar, A., Congenital cytomegalovirus infections and glycoprotein B genotypes in live-born infants: A prevalence study in Turkey. *Infectious Diseases* 1-7. 2015.
- 90.** Kubar, A., Saygun, I., Yapar, M., Ozdemir, A., Slots, J., Real-time PCR Quantification of Cytomegalovirus in Aggressive Periodontitis lesions using TaqMan Technology, *J Periodontal Res*. 39(2), 81-86, 2004.
- 91.** Yapar, M., Aydogan, H., Pahsa, A., Besirbellioglu, B.A., Bodur, H., Basustaoglu, A.C., Guney, C, Avci, I.Y., Sener, K., Setteh, M.H., Kubar, A. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-PCR, *Japanese J Infect Dis*. 58, 358-62, 2005.
- 92.** Vincent, JL., Rello, J., Marshall, J., Silva, E., Anzueto, A., Martin, CD., Moreno, R., Lipman, J., Gomersall, C., Sakr, Y., Reinhart, K., EPIC II Group of Investigators International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 302(21):2323, 2009.
- 93.** Rafailidis, PI., Mourtzoukou, EG., Varbobitis, IC., Falagas, ME., Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virol J*. 5:47–54, 2008.
- 94.** Müller, LV., Klemm, A., Weiss, M., Schneider, M., Suger-Wiedeck, H., Durmus, N., Hampl, W., ve Mertens, T., Active Cytomegalovirus Infection inPatients with Septic Shock *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 12, No. 10, October 2006

- 95.** Florescu, DF. ve Kalil, AC., Cytomegalovirus Infections in Non-Immunocompromised and Immunocompromised Patients in the Intensive Care Unit Infectious Disorders – Drug Targets. *11*, 354-364, 2011.
- 96.** Kalil, AC., Florescu, DF., Prevalence and mortality associated with cytomegalovirus infection in non immunosupressed patients in the intensive care unit. *Crit Care Med.* Aug;37(8):2350-8, 2009.
- 97.** Chiche, L., Forel, JM., Roch, A., Guervilly, C., Pauly, V., Allardet-Servent, J., Gainnier, M., Zandotti, C., Papazian, L., Active cytomegalovirus infection is common in mechanically ventilated medical intensive care unit patients. *Crit Care Med.* Jun;37(6):1850-7, 2009.
- 98.** Osawa, R., Singh, N., Cytomegalovirus infection in critically ill patients: systematic review. *Crit Care.* 13(3):R68, 2009.
- 99.** Vamvakas, EC., Is white blood cell reduction equivalent to antibody screening in preventing transmission of cytomegalovirus by transfusion? A review of the literature and meta-analysis. *Transfus Med Rev.* 19(3), 181-99, 2005.
- 100.** Pierson, DL., Stowe, RP., Phillips, TM., Lugg, DJ., Mehta, SK., Epstein-Barr virus shedding by astronauts during space flight. *Brain Behav Immun.* 19:235-42, 2005.
- 101.** Donati, D., Espmark, E., Kironde, F., Mbidde, EK., Kamya, M., Lundkvist, A., ve ark. Clearance of circulating Epstein-Barr virus DNA in children with acute malaria after antimalaria treatment. *J Infect Dis.* 193:971-7, 2006.
- 102.** Friedrichs, I., Bingold, T., Keppler, OT., Pullmann, B., Reinheimer, C., Berger, A., Detection of herpesvirus EBV DNA in the lower respiratory tract of ICU patients: a marker of infection of the lower respiratory tract? *Med Microbiol Immunol.* 202:431–436, 2013.
- 103.** Sousa, H., Silva, J., Azevedo, L., Pinto-Correia, AL., Catarino, R., Pinto, D., ve ark. Epstein-Barr virus in healthy individuals from Portugal. *Acta Med Port.* 24:707-12., 2011.
- 104.** Luzuriaga, K., Sullivan, JL., Infectious mononucleosis *N Engl J Med.*

362(21):1993, 2010.

105. Laupland, KB., Shahpori, R., Kirkpatrick, AW., Ross, T., Gregson, DB., Stelfox, HT., Occurrence and outcome of fever in critically ill adults. Crit Care Med. 36(5):1531, 2008.

106. Marik PE., Fever in the ICU. Chest. 117(3):855, 2000.

107. Luyt, CE., Combes, A., Deback., C., Aubriot-Lorton, M., Nieszkowska, A., Herpes Simplex Virus Lung Infection in Patients Undergoing Prolonged Mechanical Ventilation. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. vol 175, 2007.

108. Avcı, İY., Turhan, V., Çınar, E., "Kan nakli ile bulaşan enfeksiyon hastalıkları". Türkiye Klinikleri J Med Sci. 20(5):317-324, 2000.