

Yüksek Risk Altındaki Hastaların Klinik Örneklerinde BK ve JC Virus DNA Pozitifliğinin Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması*

Investigation of BK and JC Virus DNA Positivities by Real-Time Polymerase Chain Reaction in the Clinical Samples of Patients with High Risk

Seyyal ROTA¹, Kibriya FIDAN², Gülelendam BOZDAYI¹, Aydın DALGIÇ³, Işıl FIDAN¹, Gülsan SUKAK⁴, Tuba MÜDERRİS¹

¹ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.

² Gazi University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Ankara, Turkey.

³ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara.

³ Gazi University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Ankara, Turkey.

⁴ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, Ankara.

⁴ Gazi University Faculty of Medicine, Department of Bone Marrow Transplantation Unit, Ankara, Turkey.

* Bu çalışma XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (21-25 Ekim 2008, Bodrum) ve XII. Annual ESCV Meeting (27-30 Eylül 2009, İstanbul)'de sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 09.07.2010 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 07.02.2011

ÖZET

İnsan polyomavirusları olan BK virus (BKV) ve JC virus (JCV), toplumlarda yaygın olarak bulunan ve latent enfeksiyon oluşturan küçük DNA viruslarıdır. Hayatın erken dönemlerinde kazanılan primer BKV/JCV enfeksiyonları genellikle asemptomatik seyretmektedir. Ancak kemik iliği ve solid organ transplantasyonu yapılan ya da kanserli hastalar gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda bu virusların reaktivasyonu ciddi klinik tablolara yol açabilmektedir. Bu retrospektif çalışmanın amacı, polyomavirus enfeksiyonu yönünden yüksek risk altındaki hastaların klinik örneklerinde BKV ve JCV DNA varlığının gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile araştırılmasıdır. Çalışmaya, Temmuz 2007-Ocak 2009 tarihleri arasında, immün sistemi bozuk/baskılanmış hastaların yattığı kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen, 115 hastaya ait toplam 268 örnek (62 kan, 206 idrar) dahil edilmiştir. İdrar ve kan örneklerinden viral nükleik asit izolasyonu "High Pure PCR Template Preparation Kit" (Roche, Almanya) ile yapılmış ve

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Seyyal Rota, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Beşevler 06500, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 202 6998, **E-posta (E-mail):** seyyalrota3@hotmail.com

DNA'lar küçük t antijeninin 174 (JCV) ve 219 (BKV) baz çiftlik bölgesini çoğaltan primer dizilerini içeren amplifikasyon karışımı (TIB Molbiol GmbH, Almanya) ve hibridizasyon problemleri (Roche, Almanya) kullanılarak LightCycler (Roche Applied Science, Almanya) cihazı ile çoğaltılmıştır. Çalışmaya alınan örneklerde polyomavirus DNA pozitifliği %33.2 (89/268) olarak saptanmıştır. BKV ve JCV DNA pozitifliği örneklerine göre değerlendirildiğinde; idrar örneklerinin %25.2 (53/206)'sinde BKV, %14.5 (30/206)'inde JCV ve %2.4 (5/206)'ünde hem BKV hem de JCV DNA varlığı tespit edilmiştir. Kan örneklerinin sadece birinde (1/62; %1.6) BKV DNA pozitifliği belirlenirken, hiçbirisinde JCV DNA'sı saptanmamıştır. Örneklerdeki BKV ve JCV DNA pozitiflik oranlarının gönderildikleri kliniklere göre dağılımı ise sırasıyla; çocuk nefroloji servisi için %24.3 ve %9.5; böbrek transplantasyon ünitesi için %9.6 ve %8.2; erişkin nefroloji servisi için %13.5 ve %18.9; kemik iliği transplantasyon ünitesi için %30.8 ve %15.4; çocuk hastalıkları kliniği için %22.9 ve %8.6 olarak saptanmıştır. Çocuk hematoloji servisinde gelen örneklerde %36.4 oranında (4/11) BKV pozitifliği saptanmasına karşın JCV pozitifliği izlenmemiş; erişkin hematoloji servisinde gelen üç örneğin birinde JCV pozitifliği saptanmasına karşın BKV pozitifliği bulunmamıştır. Yoğun bakım ünitesinden gelen altı örneğin üçünde BKV saptanırken, çocuk endokrinoloji servisinde gelen iki örnekte de JCV saptanmıştır. BK viremisinin tespit edildiği tek hasta böbrek transplantasyon ünitesinde yatmaktadır. Her iki virusa ait DNA pozitifliği idrar örneklerinde %1.9 (5/268) gibi oldukça düşük oranda saptanmıştır. Çalışılan örneklerin %24.7 (22/89)'sinde BKV DNA $\geq 10^7$ kopya/ml, %2.2 (2/89)'sinde JCV DNA $\geq 10^7$ kopya/ml, %2.2 (2/89)'sinde ise hem BKV hem de JCV DNA'ları $\geq 10^7$ kopya/ml olarak belirlenmiş; bu örneklerin tümünün idrar olduğu izlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, hastanemizde immünsüpresif hastaların izlendiği klinikler ile BKV/JCV enfeksiyonlarının tanısı ve hastaların takibi konusunda ortak bir algoritma belirlenmesine olanak sağlamıştır. Sonuç olarak, BKV ve JCV reaktivasyon ve enfeksiyonlarının önem taşıdığı hasta gruplarında özellikle de kemik iliği ve böbrek nakli yapılan merkezlerde, tanı ve takibe yönelik programların oluşturulması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: BK virusu; JC virusu; gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu; transplantasyon; immünsüpresif hasta.

ABSTRACT

Human polyomaviruses, namely BK (BKV) and JC (JCV) viruses are small DNA viruses that cause latent infections worldwide. Primary infections are usually acquired in the early periods of life and are generally asymptomatic. However BKV/JCV infections may cause severe clinical conditions in immunosuppressive patients such as bone marrow and solid organ transplantation or cancer patients. The aim of this retrospective study was to investigate the presence of BKV and JCV nucleic acids by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) in the clinical samples of patients with high risk. A total of 268 (62 blood, 206 urine) samples obtained from 115 immunocompromised patients hospitalized in Gazi University Hospital between July 2007 to January 2009, were included to the study. Viral nucleic acids were extracted from the samples with High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Germany). By using amplification mix (TIB Molbiol GmbH, Germany) that included primers targeting 174 (JCV) and 219 (BKV) base pair fragments of the small t antigen, and hybridization probes (Roche, Germany), nucleic acids were amplified with LightCycler (Roche Applied Science, Germany) system. As a result, total polyomavirus DNA positivity rate was found as 33.2% (89/268). When BKV and JCV DNA positivities were evaluated according to the samples, 25.2% (53/206) of urine samples yielded positive results for BKV, 14.5% (30/206) for JCV and 2.4% (5/206) for both BKV and JCV. Only one of the blood samples (1/62; 1.6%) were found positive by means of BKV DNA, while none of the blood samples were positive for JCV DNA. The distribution of BKV and JCV DNA positivity rates according to the inpatient clinics were as follows, respectively; 24.3% and 9.5% for pediatric nephrology, 9.6% and 8.2% for renal transplantation unit, 13.5% and 18.9% for adult nephrology, 30.8% and 15.4% for bone marrow transplantation unit, 22.9% and 8.6% for pediatric clinics. In samples from pediatric hematology patients, BKV positivity was 36.4% (4/11), while there were no JCV positivity. However, in hematology patients, while JCV was positive in one of the three samples, no BKV positivity was detected.

BKV was seen in three of six samples obtained from patients in the intensive care unit. JCV was positive in both of the two samples obtained from patients in pediatric endocrinology. The only patient that had BKV DNA in blood sample was a renal transplant patient. BKV + JCV DNAs were positive together in only five (1.9%) of the urine samples. In 24% (22/89) of the samples, BKV DNA was found $\geq 10^7$ copies/ml, in 2.2% (2/89) JCV DNA was $\geq 10^7$ copies/ml, whereas in 2.2% (2/89) of samples both BKV and JCV DNA was $\geq 10^7$ copies/ml. All of those samples with high DNA levels were urine. The data of this study led to the establishment of a collaborative algorithm between the laboratory and clinics in our hospital for the diagnosis and follow-up of the patients in terms of BKV/JCV infections. In conclusion, since BKV/JCV reactivations and infections are crucial in immunosuppressive patients, especially medical centers specialized in bone marrow and renal transplantation, diagnostic and monitoring procedures related to those infections should be programmed.

Key words: BK virus; JC virus; real-time polimerase chain reaction; transplantation; immunosuppressive patient.

GİRİŞ

Polyomaviridae ailesinde sınıflandırılan BK ve JC virusları (sırasıyla; BKV ve JCV), küçük, zarfsız, ikozahedral yapılı, çift iplikli DNA viruslarıdır¹. İlk kez 1971 yılında tanımlanan bu viruslar izole edildikleri hastaların ad ve soyadlarının baş harfleri ile isimlendirilmişlerdir². BK ve JC virusları, DNA düzeyinde %75, aminoasit düzeyinde ise %68 homoloji göstermektedir¹. Her iki virus da, hayatın ilk 10-15. yılında kazanılmakta ve enfeksiyonlar genellikle asemptomatik geçirilmektedir². Polyomaviruslar toplumlarda yaygın olarak bulunmakta olup, BKV ve JCV seropozitifliği yaşa ve bölgelere göre değişiklik göstermektedir². Genel olarak BKV seroprevalansının 5-9 yaşlarında %70-90'a ulaştığı, JCV seroprevalansının ise 25 yaşından sonra %50-72 arasında değiştiği belirtilmektedir^{2,3}. Ülkemizde, 1123 sağlıklı kişinin dahil edildiği bir çalışmada, BKV seroprevalansı %78.5 olarak saptanmış ve seropozitifliğin 1-10 yaş grubunda, > 10 yaş gruba oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir⁴. Bu sonuç ülkemizde de BKV enfeksiyonlarının yaygın olduğunu ve virusun çocukluk döneminde kazanıldığını vurgulamaktadır.

Primer enfeksiyonu takiben, BKV, ürogenital kanal, böbrek ve santral sinir sistemini de içeren çeşitli dokularda, JCV ise B lenfositlerinde latent olarak kalmaktadır^{1,5,6}. Bu viruslar, immün sistemin baskılanması sonucu reaktif olarak litik enfeksiyon oluşturur ve çeşitli klinik bulguların ortaya çıkmasına yol açabilir^{1,7}. Spontan BKV reaktivasyonu, sağlıklı bireylerin %5-20'sinde görülebilmekte ve düşük düzeyde replikasyon ile idrarda virus atılımı olabilmektedir. BKV reaktivasyonunun asemptomatik hematüri, hemorajik sistit, nefrit, üreter ülserasyonu veya darlığına neden olabildiği; allograft alıcılarında ise graft atılımı ve nefropatiye yol açabildiği bilinmektedir^{3,5,8}. Immünkompromize hastalarda JCV reaktivasyonu ise, virusun santral sinir sisteminde oligodendrositleri etkilemesi sonucu progresif multifokal lökoensefalopati (PMLE) gelişimine yol açabilir^{1,8}.

BKV ve JCV reaktivasyonları, immünsüpresif tedavi alan böbrek ve kemik iliği transplantlı hastalar ile kanserli hastalar için ciddi klinik öneme sahiptir⁸. Dolayısıyla bu hastalarda enfeksiyonların erken tanısı, immünsüpresif ilaç dozunun azaltılması ve/veya alternatif ilaç tedavilerinin planlanması açısından değerlidir.

Bu retrospektif çalışmada, polyomavirus enfeksiyonu yönünden yüksek risk altındaki hastaların klinik örneklerinde BKV ve JCV DNA varlığının gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Temmuz 2007-Ocak 2009 tarihleri arasında, immün sistemi bozuk/baskılanmış hastaların yattığı kliniklerden (transplantasyon üniteleri, nefroloji, hematoloji, yoğun bakım vb.) laboratuvarımıza gönderilen, 115 hastaya ait toplam 268 örnek (62 kan, 206 idrar) dahil edildi (Tablo I). Örneklerden BKV ve JCV nükleik asitlerinin ekstraksiyonu, "High Pure PCR Template Preparation" kiti (Roche, Almanya) ile üreticinin önerileri doğrultusunda yapıldı.

İdrar ve kan örneklerinden elde edilen DNA'lar; küçük t antijenin "A" 174 baz çift (bç)'lik parçası (polyomavirus JC) ve "a" 219 bç'lik parçasını (polyomavirus BK) çoğaltan primer dizilerini içeren "Light Mix" (TIB Molbiol GmbH, Almanya) amplifikasyon karışımı ve "Light Cycler Fast Start DNA Master Hybridization" problemleri (Roche, Almanya) kullanılarak LightCycler-1.5 (Roche Applied Science, Almanya) cihazı ile çoğaltıldı. Ürünlerin erime eğrisi ve erime noktası (T_m) analizleri yine aynı cihazda yapıldı. BKV pozitif örnekler kanal 640'ta $64 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de pik veren BKV standartları ile birlikte; JCV pozitif örnekler kanal 705'te $68 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de pik veren JCV standartları ile birlikte değerlendirildi. Her iki virus için de kullanılan negatif kontrollerde herhangi bir pik gözlenmedi. Her çalışmada, sayısal değerin hesaplanabilmesi için altı adet BKV standart,

Tablo I. Örneklerin Kliniklere Göre Dağılımı ve Örneklerde BKV ve JCV DNA Pozitiflik Oranları

Klinik (toplam örnek sayısı)	BKV DNA pozitif		JCV DNA pozitif		BKV + JCV DNA pozitif	
	İdrar Sayı (%)	Kan Sayı (%)	İdrar Sayı (%)	Kan Sayı (%)	İdrar Sayı (%)	Kan Sayı (%)
Çocuk nefroloji (74)	18 (24.3)	-	7 (9.5)	-	1 (1.4)	-
KLT ünitesi (26)	8 (30.8)	-	4 (15.4)	-	2 (7.7)	-
Böbrek transplantasyon ünitesi (73)	7 (9.6)	1 (1.4)	6 (8.2)	-	1 (1.4)	-
Erişkin nefroloji (37)	5 (13.5)	-	7 (18.9)	-	-	-
Çocuk hastalıkları (35)	8 (22.9)	-	3 (8.6)	-	1 (2.9)	-
Çocuk hematoloji (11)	4 (36.4)	-	-	-	-	-
Yoğun bakım ünitesi (6)	3 (50)	-	-	-	-	-
Erişkin hematoloji (3)	-	-	1 (33.3)	-	-	-
Çocuk endokrinoloji (2)	-	-	2 (100)	-	-	-
Genel cerrahi (1)	-	-	-	-	-	-
Toplam (268)	53 (19.8)	1 (0.4)	30 (11.2)	-	5 (1.9)	-

KLT: Kemik iliği transplantasyonu.

altı adet JCV standart, bir adet negatif kontrol çalışmaya dahil edildi. Alınan negatif sonuçların geçerliliği, çalışmaya konulan internal kontrol ile denetlendi. Kullanılan kitin saptama alt sınırı 10 kopya/ml; üst sınırı ise plazma için 7000 kopya/ml, idrar için 15.000 kopya/ml olup, üretici firma tarafından kitin duyarlılığı %97.2, özgüllüğü ise %100 olarak verilmekte idi.

İstatistiksel değerlendirmede ki-kare testi kullanıldı ve analizler SPSS for Windows version 15.0 (Chicago, ABD) ile yapıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 115 hastaya ait 268 örneğin 89 (%33.2)'unda, BKV ve/veya JCV DNA varlığı saptanmıştır. Örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımı ile BKV ve JCV DNA pozitiflik oranları Tablo I'de görülmektedir. Toplu olarak değerlendirildiğinde; 206 idrar örneğinin 53 (%25.7)'ünde BKV DNA, 30 (%14.5)'unda JCV DNA, 5 (%2.4)'inde ise hem BKV hem de JCV DNA'sı pozitif olarak saptanmıştır. Kan örneklerinin sadece birinde (1/62; %1.6) BKV DNA pozitifliği belirlenirken, hiçbirisinde JCV DNA'sı tespit edilmemiştir (Tablo I).

BKV DNA ve JCV DNA pozitiflik oranlarının, örneklerin gönderildiği kliniklere göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir (sırasıyla; $p = 0.055$ ve $p = 0.478$).

Viral nükleik asit pozitifliği saptanan 89 örneğin 26 (%29.2)'sında kantitatif DNA düzeylerinin $\geq 10^7$ kopya/ml olduğu tespit edilmiş ve hepsi idrar olan bu örneklerin kliniklere göre dağılımı Tablo II'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Hayatın erken dönemlerinde kazanılan ve vücutta latent olarak kalan BKV ve JCV, özellikle düşkün ya da bağışıklık sistemi bozuk veya baskılanmış kişilerde reaktif olarak ciddi klinik tablolara neden olabilir^{7,8}. Bu çalışmada, BKV ve JCV reaktivasyon riski yüksek

Tablo II. Yüksek BKV ve JCV DNA Düzeyi ($\geq 10^7$ kopya/ml) Saptanan İdrar Örneklerinin Kliniklere Göre Dağılımı

	BKV DNA	JCV DNA	BKV + JCV DNA	Toplam
Kemik iliği transplantasyon ünitesi	5	1	1	7
Böbrek transplantasyon ünitesi	5	-	-	5
Çocuk hastalıkları	5	-	-	5
Çocuk nefroloji	4	-	-	4
Erişkin nefroloji	2	1	-	3
Yoğun bakım	1	-	-	1
Erişkin hematoloji	-	-	1	1
Toplam	22	2	2	26

olan hastaların klinik örneklerinde viral nükleik asit varlığı RT-PCR yöntemiyle araştırılmış ve pozitifliğin saptandığı örneklerin kliniklere göre dağılımı belirlenmiştir. Çalışılan örneklerde toplam BKV ve/veya JCV DNA pozitiflik oranı %33.2 (89/268) olarak bulunmuş ve en yüksek pozitiflik oranının (14/26; %53.8), beklenildiği gibi, kemik iliği transplantasyon ünitesinden gelen örnekler için olduğu izlenmiştir. Bu oran çocuk hematoloji, çocuk nefroloji, çocuk hastalıkları, erişkin nefroloji ve böbrek transplantasyon ünitesinden gelen örnekler için sırasıyla %36.4 (4/11), %35.1 (26/74), %34.3 (12/35), %32.4 (12/37) ve %20.5 (15/73) olarak saptanmıştır.

Kemik iliği transplantasyonu (KİT) yapılan hastalarda 2-8. haftalarda idrarla BKV salınımı olmakta, ancak viruri asemptomatik seyredebilmektedir. Yüksek doz kemoterapi ve KİT uygulanan hastaların %50-80'inde BK virüsü olduğu ve bunların da %64'ünde geç başlangıçlı hemorajik sistit (HS) geliştiği bildirilmektedir⁹. Erken başlangıçlı HS yüksek doz kemoterapi sonrası ilk 48 saat içerisinde görülürken, geç başlangıçlı HS 48 saatten sonra ortaya çıkar ve en sık rastlanan etkenler BKV ve adenoviruslardır¹⁰. Bizim çalışmamızda KİT hastalarının idrar örneklerinde saptanan BKV DNA pozitifliği (10/26), bu hastaların klinik seyirlerinin izlenmesi gereğini ortaya koymaktadır.

Böbrek transplantasyonu (BT) sonrası takip edilen hastalarda BKV pozitiflik oranının JCV'den daha yüksek olduğu bildirilmektedir^{5,7,11}. Saundh ve arkadaşları⁷, BT yapılan 30 hastayı izledikleri çalışmalarında, sekiz hastada BK virüsü saptamışlar ve 12 ay sonra bunların sadece birinde biyopsi ile doğrulanan nefropati geliştiğini, JC virüsü saptadıkları beş hastada ise nefropati oluşmadığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, BKV reaktivasyonunun transplantasyon sonrası üçüncü ayda gerçekleşirken JC virüsünün daha erken olduğunu belirtmişler; nefropati gelişiminin yüksek düzey ($\geq 10^7$ kopya/ml) viruri ile ilişkili olduğunu ve RT-PCR yönteminin BT hastalarında polyomavirus enfeksiyonlarının takibinde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir⁷. Amerikan Transplantasyon Derneği, BT hastalarında polyomavirus DNA'sının idrarda $\geq 10^7$ kopya/ml, plazmada ise $\geq 10^4$ kopya/ml olması halinde klinik olarak nefropatinin gelişebileceğini kabul etmektedir¹². Bizim çalışmamızda da, kantitatif değerlendirme bu veriye göre yapılmış ve BKV/JCV pozitif idrar örneklerinin %29.2 (26/89)'sinde DNA düzeylerinin $\geq 10^7$ kopya/ml olduğu saptanmıştır (Tablo II). Bu durum, viruri düzeyinin yüksek olduğu bu hastaların ileriki dönemlerde nefropati gelişimi açısından risk altında olduğunu düşündürmektedir. Ancak örneklerin alındığı hastaların klinik bilgilerine ulaşamamış ve klinik ve laboratuvar izlemlerinin yapılamamış olması, çalışmamızın en önemli sınırlamasıdır.

Costa ve arkadaşları⁵, BT yapılan 109 hastadan aldıkları 138 renal ve üretral doku örneğinde RT-PCR yöntemiyle yaptıkları çalışmada, BKV DNA pozitifliğini %29.6, JCV DNA pozitifliğini ise %18.3 oranında bulmuşlar ve renal allograft biyopsilerinde viral DNA kantitasyonunun nefropati gelişiminde yol gösterici olabileceğini bildirmişlerdir. Kaneko ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında ise, 45 böbrek alıcısı hastaya ait idrar örneklerinde RT-PCR ile BKV ve JCV DNA pozitifliğinin aynı oranda (%33.3) olduğu bulunmuştur. Ülkemizde de, BT'den sonra BKV reaktivasyonları ile ilgili raporlar mevcuttur¹⁴⁻¹⁹. 1992 yılında Us ve

Ustaçelebi¹⁴, böbrek ve kemik iliği transplantasyonu yapılan 10 hastanın dördünde BKV reaktivasyonunu serolojik olarak göstermişlerdir. Senger ve arkadaşları¹⁶ da, BT yapılmış 18 hastadan birinde RT-PCR BKV viremi saptamışlar ve immünsüpresif tedavi dozunun azaltılmasıyla BKV yükünün azaldığını bildirmişlerdir. Yazısız ve arkadaşlarının¹⁷ yaptığı çalışmada, kemik iliği ve kök hücre nakli yapılan 12 hasta izlenmiş ve tümünde RT-PCR ile bir veya birden fazla idrar ve kan örneğinde BKV pozitifliği saptanmıştır. Hemorajik sistit gelişen iki hastadan bir tanesi BKV ile ilişkilendirilmiş ve immünsüpresyon dozu azaltılarak klinik düzelleme sağlanmıştır¹⁷. Fidan ve arkadaşları¹⁸ ise, BT yapılan ancak BKV enfeksiyonu gelişimi nedeniyle graft reddinin ortaya çıktığı iki çocuk olguyu rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar, transplantasyon sonrası görülen BKV nefropatisi riskinin belirlenmesinde, kan ve idrarda viral yük tayini ve izleminin önem taşıdığını vurgulamışlardır¹⁸.

Bizim çalışmamızda, BT ünitesinde yatan hastalar ile BT yapıldıktan sonra çocuk/erişkin nefroloji kliniklerinde takip edilen hastalara ait örnekler toplu olarak değerlendirildiğinde, idrarda BKV DNA pozitifliği %17.4 (32/184) ve JCV DNA pozitifliği %11.9 (22/184) olarak belirlenmiş; buna karşın sadece bir kan örneğinde (1/184; %0.5) BKV DNA pozitif olarak saptanmıştır. BK viremi tespit edilen bu tek hastanın (1/115; %0.9) BT ünitesinde yatan bir hasta olduğu izlenmiştir. Sonuçlarımız, BT yapılan hastalarda BKV reaktivasyonlarının JCV'den daha yüksek olduğu verisini desteklemektedir. Her ne kadar saptadığımız BKV/JCV DNA pozitifliklerinin reaktivasyon sonucu olduğu düşünülmüşse de, hastaların transplantasyon öncesi seropozitiflik durumları bilinmediğinden bu konuda net bir sonuca varmak mümkün değildir.

BK ve JC viruslarının, gerek seronegatif bir alıcıya seropozitif bir vericinin dokusu ile nakledilerek, gerekse önceden seropozitif alıcılarda immünsüpresif ilaçların kullanımı ile reaktif olarak, immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi klinik tablolara neden olabileceği iyi bilinmektedir²⁰. Dolayısıyla özellikle kemik iliği ve BT yapılan merkezlerde, BKV ve JCV enfeksiyonlarının erken ve doğru tanısı için uygun yöntemlerin kullanılması ve takibe yönelik bir algoritmanın oluşturulması gerekmektedir. Nitekim bu çalışmadan elde edilen veriler ile, hastanemizde riskli hasta gruplarının yattığı klinikler ile BKV ve JCV enfeksiyonlarının tanısı ve hastaların takibi konusunda ortak bir algoritma belirlenmiştir. Buna göre; BT yapılacak hastalardan nakil öncesi ve nakil sonrası 7. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 12. aylarda olmak üzere alınacak örneklerde BKV ve JCV DNA'larının PCR ile araştırılmasına; ayrıca kök hücre nakli yapılan ve takiplerinde hematüri görülen hastalardan idrar sitolojisi ve idrar kültürü incelemelerinin yanı sıra idrarda BKV/JCV PCR analizi yapılmasına ve pozitif sonuç alınan (klinikte bu durumu açıklayacak başka bir patolojik bulgu saptanmayan) hastalara tedavi başlanarak viral yükün kantitatif olarak izlenmesine karar verilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Vilchez RA, Kusne S. Molecular and clinical perspectives of polyomaviruses: emerging evidence of importance in non-kidney transplant populations. *Liver Transpl* 2006; 12(10): 1457-63.
2. Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV). *Adv Exp Med Biol* 2006; 577(1): 19-45.

3. Ribeiro T, Fleury MJ, Granieri E, et al. Investigation of the prevalence of antibodies against neurotropic polyomaviruses BK, JC and SV40 in sera from patients affected by multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2010; 31: 517-21.
4. Us D, Hayran M, Ustacelebi S. New human polyomavirus; BK virus antibody levels in different age groups using the hemagglutination inhibition test. *Mikrobiyol Bul* 1991; 25(2): 173-7.
5. Costa C, Bergallo M, Sidoti F, et al. Polyomaviruses BK- and JC-DNA quantitation in kidney allograft biopsies. *J Clin Virol* 2009; 44(1): 20-3.
6. Comar M, Zanotta N, Bovenzi M, Campello C. JCV/BKV and SV40 viral load in lymphoid tissues of young immunocompetent children from an area of north-east Italy. *J Med Virol* 2010; 82(7): 1236-40.
7. Saundh BK, Tibble S, Baker R, Sasnauskas K, Harris M, Hale A. Different patterns of BK and JC polyomavirus reactivation following renal transplantation. *J Clin Pathol* 2010; 63(8): 714-8.
8. Boothpur R, Brennan DC. Human polyoma viruses and disease with emphasis on clinical BK and JC. *J Clin Virol* 2010; 47(4): 306-12.
9. Güneş D, Uysal KM. Yüksek doz kemoterapi ve hematopoietik kök hücre transplantasyonu uygulanan çocuklarda hemorajik sistit. *UHOD-Uluslararası Hematoloji Onkoloji Dergisi* 2007; 17(2): 118-28.
10. Kürekçi AE, Atay AA, Azık F, Güney Ç, Erduran E. Allojeneik kemik iliği nakli sonrası polyomavirus hominis tip 1 (BKV)'e bağlı geç başlangıçlı hemorajik sistit. IV. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi. 1-4 Mart 2007, Bursa. Kongre Kitabı, S27.
11. Randhawa P, Ho A, Shapiro R et al. Correlates of quantitative measurement of BK polyomavirus (BKV) DNA with clinical course of BKV infection in renal transplant patients. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1176-1180.
12. Humar A, Michaels M. American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6(2): 262-74.
13. Kaneko T, Moriyama T, Tsubakihara Y, Horio M, Imai E. Prevalence of human polyoma virus (BK virus and JC virus) infection in patients with chronic renal disease. *Clin Exp Nephrol* 2005; 9(2): 132-7.
14. Us D, Ustacelebi S. Detection of BK virus activation in renal and bone marrow transplantation patients using serological and virological methods. *Mikrobiyol Bul* 1992; 26(3): 214-23.
15. Demir E, Liebert UG, Soylemezoglu F, Yalaz K, Kose G, Anlar B. Childhood case of progressive multifocal leukoencephalopathy with improved clinical outcome. *J Child Neurol* 2005; 20(3): 241-4.
16. Serin Senger S, Kursun E, Arslan H, Colak T, Haberal M. Renal transplant alıcılarında polyomavirus BK ve JC saptanması. III. Ulusal Viroloji Kongresi. 9-13 Aralık 2007, Uludağ. Kongre Kitabı, s: 227, S10.
17. Yazısız H, Uygun V, Mutlu D, Özcan A, Hazar V, Çolak D. Kemik iliği/kök hücre transplantasyonu yapılan çocuklarda BK virüs surveyansı. III. Ulusal Viroloji Kongresi. 9-13 Aralık 2007, Uludağ. Kongre Kitabı, s: 224, S07.
18. Fidan K, Soylemezoglu O, Cakir A, Barit G, Dalgic A, Buyan N. BK virus-associated nephropathy in two pediatric kidney recipients. *Transplant Proc* 2008; 40(1): 310-2.
19. Gedizlioglu M, Coban P, Ce P, Sivasli IE. An unusual complication of immunosuppression in myasthenia gravis: progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neuromuscul Disord* 2009; 19(2): 155-7.
20. Jiang M, Abend JR, Johnson SF, Imperiale MJ. The role of polyomaviruses in human disease. *Virology* 2009; 384(2): 266-73.