



ISSN:1306-3111

e-Journal of New World Sciences Academy
2012, Volume: 7, Number: 2, Article Number: 1B0032

NWSA-MEDICAL SCIENCES

Received: December 2011

Accepted: April 2012

Series : 1B

ISSN : 1308-7312

© 2010 www.newwsa.com

Melek İnci
Selma Gökahmetoğlu

Mustafa Çetin

Oktay Oymak

Ali Ünal

Mustafa Kemal University

dr.melek.inci@gmail.com

Hatay-Turkey

**TRANSPLANTASYON YAPILAN HASTALARDA GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU
YÖNTEMLİYLE SİTOMEGALOVİRÜS DNA VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışmada transplantasyon yapılan hastalarda sitomegalovirüs (CMV) DNA varlığının araştırılması amaçlandı. Çalışmaya böbrek ve kemik iliği transplantasyonu (KİT) yapılan 30 hasta dâhil edildi. Hastalardan transplantasyon sonrası 100. güne kadar 15'er gün aralıklarla toplam 115 kan örneği alındı ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile CMV DNA araştırıldı. Hastaların 5'inde (%16.7) CMV DNA pozitif olarak saptandı. Takipler sırasında bunların 2'sinde (%6.7) CMV'ye bağlı hastalık geliştiği ve gansiklovir tedavisi ile iyileştikleri saptandı. Diğer 3 hastada (%10) CMV DNA pozitif olarak bulunmasına rağmen CMV ile ilişkili hastalık bulguları belirlenemedi. Hastaların 25'inde (%83.3) takipler sırasında CMV-DNA pozitifliğine rastlanmadı ve CMV ile ilişkili hastalık bulguları belirlenemedi. Bu çalışmada CMV hastalığı insidansı düşük olarak bulunmasına rağmen, meydana getireceği sonuçlar göz önüne alındığında transplant alıcılarında transplantasyon sonrası özellikle 1-4 aylık dönemde PCR ile CMV DNA araştırılarak CMV enfeksiyonu yönünden takip edilmesinin faydalı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Sitomegalovirüs, DNA, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Böbrek Transplantasyonu, Kemik İliği Transplantasyonu*

INVESTIGATION OF PRESENCE OF CYTOMEGALOVIRUS DNA BY REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION IN PATIENTS UNDERWENT TRANSPLANTATION

ABSTRACT

In this study, it was aimed to evaluate presence of Cytomegalovirus (CMV) DNA in patients who underwent transplantation. Thirty patients, underwent renal and bone marrow transplantation were included to this study. Totally 115 blood samples were taken from patients by 15-day interval after transplantation until day 100 and CMV DNA was evaluated by real-time polymerase chain reaction (PCR). Five patients (16.7%) were detected as positive for CMV DNA. It was found that CMV-related disease was developed in 2 patients (6.7%) during follow-up and both were recovered with ganciclovir therapy. No CMV-related disease was detected in remaining 3 patients (10.0%), although they were found as positive for CMV DNA. CMV DNA positivity wasn't detected in 25 patients (83.3%) and no CMV-related disease was found. Considering the consequences of CMV disease, although incidence was found low in the present study, it was concluded that it would be beneficial to follow transplant recipients, particularly within the 1-4 month interval after transplantation, with CMV DNA evaluation by PCR.

Keywords: *Cytomegalovirus, DNA, Polymerase Chain Reaction, Renal Transplantation, Bone Marrow Transplantation*

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

İnsan sitomegalovirüsü (CMV) *Herpesviridae* ailesinin alt grubu olan *Betaherpesvirinae* içerisinde sınıflandırılmaktadır. Diğer Herpes virüslere benzer olarak primer enfeksiyondan sonra, konakta persistant veya latent olarak kalmakta ve farklı uyaranlarla özellikle de immünsüpresyonla reaktif olabilir. CMV enfeksiyonları konjenital, perinatal ve postnatal olarak sınıflandırılır. Yenidoğanların %0.5-2.5'inde CMV'ye bağlı enfeksiyon saptanmaktadır. Bebek doğum kanalından geçerken virüs ile temas yoluyla enfeksiyonu perinatal olarak kazanabilmektedir. Postnatal enfeksiyon ise virüs yayan bireylerle yakın temasla, kan transfüzyonu yada organ nakli vasıtasıyla gerçekleşebilmektedir [1]. CMV enfeksiyonu herhangi bir vücut sıvısında veya doku örneğinde viral proteinlerin yada nükleik asitlerin saptanması veya CMV virüsünün izolasyonu olarak tanımlanır. CMV hastalığı ise CMV'nin saptanması ile birlikte klinik semptomların varlığıdır [2].

CMV enfeksiyonları kemik iliği ve solid organ transplantasyonlarından sonra yaşamı tehdit eden CMV ile ilişkili hastalıklara ve graft rejeksiyonlarına yol açabilmektedir [1 ve 3]. Bu hastalarda enfeksiyon; primer, latent virüsün reaktivasyonu yada reenfeksiyon şeklinde olabilmektedir. Aktif enfeksiyon genellikle transplantasyon sonrası 1-4 ayda meydana gelmektedir [1].

Günümüzde özellikle risk grubundaki hastalarda önemli sorunlar oluşturan CMV enfeksiyonlarını önlemek ve gelişen hastalıkları tedavi etmek için etkili antiviral ajanlar bulunmaktadır. Bu durumda çabuk sonuç veren, özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek yöntemlerle tanı konulması önem kazanmaktadır [4, 5 ve 6].

2. ÇALIŞMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICANCE)

CMV enfeksiyonunun tanısında serolojik testler, kültür yöntemleri, CMV antijenemi testi ve moleküler yöntemler uygulanmaktadır. İmmün sistemi baskılanmış bireylerde serolojik yanıt yetersizdir. Virüsün gösterildiği kültür yöntemleri düşük duyarlılıktadır ve zaman alıcıdır. CMV antijenemi testi günlük işlem gerektirir, zaman alıcıdır ve preparatların yorumu subjektif olabilir. Ayrıca dolaşımdaki kan lökositlerinin varlığına bağlı bir testtir [1, 3 ve 6]. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); CMV reaktivasyonunun saptanması için artmış sensitivite, erken posttransplant dönemde ciddi nötropeni sırasında CMV reaktivasyonunun güvenli şekilde saptanması, prosedürler için daha kısa zaman gerektirmesi ve çok sayıda örneğin aynı anda uygun biçimde işleme alınabilmesi bakımından antijenemi testinden daha üstündür [7]. Bu sebeplerden dolayı transplant alıcılarında CMV enfeksiyonunun tanısı için CMV genomunun saptanması güvenilir bir yöntemdir [1 ve 6].

Bu çalışmada böbrek ve kemik iliği nakli yapılan hastalarda transplantasyon sonrası dönemde gerçek zamanlı PCR yöntemiyle CMV DNA varlığının araştırılması amaçlandı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

- **Hastalar ve Örnekler:** Bu çalışmaya Şubat-Ekim 2002 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi (EÜTF) Semiha Kibar Organ nakli ve Diyaliz Hastanesi ve Mehmet Kemal Dedeman Onkoloji Hastanesi'nde böbrek ve kemik iliği transplantasyonu (KİT) nakli yapılan hastalar dâhil edildi. Böbrek nakli ve allojenik kemik iliği nakli (AKİT) yapılan hastalardan transplantasyon sonrası 15. günden, otolog kemik iliği nakli (OKİT) yapılanlardan ise 30. günden başlayarak 100. güne kadar 15'er gün aralıklarla 4'er ml kan alınıp, serumları ayrılarak CMV DNA çalışılınca kadar -70°C'de saklandı. Ayrıca

transplantasyon alıcı ve vericilerin transplantasyon öncesi EÜTF Gevher Nesibe Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda enzyeme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Euroimmun, Almanya) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılan CMV serolojik göstergeleri ve transplant alıcılara ait bilgiler hasta dosyalarından temin edildi

- **CMV DNA PCR Testi:** CMV DNA gerçek zamanlı PCR yöntemiyle araştırıldı. DNA izolasyonu Nucleospin DNA virüs kiti (Macherely Nagel, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı. CMV DNA, gerçek zamanlı PCR yöntemi ile Quantification of CMV genomes (Robogene, Almanya) kiti kullanılarak araştırıldı. Tüplere 20 µl amplifikasyon karışımından ve 5 µl izole edilmiş DNA'dan konuldu. Amplifikasyon karışımı 5 µl 10×Taqman Buffer, 11 µl MgCl₂ (25 mM), 1 µl dATP (10mM), 1 µl dCTP (10mM), 1 µl dGTP (10mM), 1 µl dUTP (10mM), 0,5 µl Amp Erase Urasil N-Glycosylase (1U/µl), 0.25 µl Taq gold polymeraz (5U/µl), 0.5 µl primer 1 (10 pmol/µl), 0.5 µl primer 2 (10 pmol/µl) ve 0.5 µl TaqMan prob'dan (5 pmol/µl) oluştu. Amplifikasyon işlemi 7700 Sequence Detection System (Perkin Elmer, ABD) cihazında gerçekleştirildi. Amplifikasyon işlemi 50°C'de 2 dakikadan oluşan birinci faz, 95°C'de 15 dakikadan oluşan ikinci faz, 94°C'de 15 saniye, 60°C'de 20 saniye, 70°C'de 1 dakikadan oluşan ve 40 kez tekrarlanan üçüncü fazla gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ki-kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR (FINDINGS)

Bu çalışmada 13'ü böbrek transplantasyonu, 9'u AKİT ve 8'i OKİT olmak üzere toplam 30 hasta yer aldı. Yaş ortalaması 34.6 (yaş aralığı 12-57) olarak belirlenen hastaların 20'sinin erkek, 10'unun ise kadın olduğu saptandı. OKİT yapılan hastalar hariç, 12 transplant alıcısına yaşayan bireyden, 10'una ise kadavradan nakil yapıldığı belirlendi. CMV serolojik göstergeleri donörlerin tamamında IgG (+) IgM (-) olarak, alıcıların ise 22'sinde (%73.3) IgG (+) IgM (-), 1'inde (%3.3) IgG (-) IgM (+), 1'inde (%3.3) ise IgG (-) IgM (-) olarak saptandı. Altı (%20) transplant alıcısının CMV serolojik gösterge sonuçlarına ulaşılamadı. Hastaların demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Toplam 115 örnekte CMV DNA çalışıldı ve 5 hastadan (%16.7) elde edilen 10 örnekte (%8.7) pozitif olarak bulundu. Bu hastaların 2'sinde (%6.7) CMV'ye bağlı hastalık geliştiği saptandı. CMV DNA pozitif olarak bulunan hastalardan birincisine AKİT yapıldığı ve alıcı ve vericinin CMV IgG (+) IgM (-) olduğu belirlendi. Bu hastada transplantasyon sonrası graft versus host hastalığı (GVHD) gelişti. Hasta verilen immünsüpresif tedaviye cevap vermedi ve CMV DNA'nın pozitif olarak bulunması üzerine hastaya gansiklovir tedavisi başlandı. Tedavi sonrası hasta iyileşti ve çalışılan CMV DNA testi negatif olarak bulundu.

İkinci hastaya kadavradan böbrek nakli yapılmıştı. Transplantasyon öncesi CMV IgG (-) IgM (-) olarak saptandı. Transplantasyon sonrası ateş, akciğer enfeksiyonu ve dizde artrit gelişti. Hasta verilen antibakteriyel ve antimikobakteriyel tedavilere yanıt vermedi. Bu sırada çalışılan CMV DNA testi pozitif olarak bulundu. Hastadaki semptomların CMV'ye bağlı olabileceği düşünüldüğü gansiklovir tedavisi başlandı. Tedavi sonrası semptomlar geriledi ve tekrar çalışılan CMV DNA testi negatif olarak bulundu.

Bir başka hastaya kadavradan böbrek nakli yapılmıştı. Transplantasyon öncesi CMV IgG (+) IgM (-) olarak belirlendi. Transplantasyon sonrası dönemde hastanın çeşitli kültürlerinde farklı

bakteriyel etkenler üredi. Hasta, verilen antibakteriyellere cevap vermedi. CMV-DNA pozitif olarak bulunması üzerine gansiklovir tedavisi başlandı. Tedavi sırasında hasta eks oldu.

CMV DNA pozitif olarak bulunan 5 hastanın 2'sine ise kadavradan böbrek nakli yapılmıştı. Her ikisinin de transplantasyon öncesi dönemde CMV serolojileri IgG (+) IgM (-) olarak bulundu. CMV DNA saptanmasına rağmen CMV ile ilişkili hastalık bulgularının olmadığı görüldü. Transplantasyon tipine göre hastalarda saptanan CMV DNA pozitiflikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Yirmi beş hastadan (%83.3) elde edilen 105 (%91.3) örnekte ise CMV DNA negatif olarak bulundu ve takipler sırasında CMV'ye bağlı herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı.

Tablo 1. Hastaların karakteristik özellikleri
(Table 1. The demographic features of patients)

Karakteristik özellikler	n	%
Yaş Ortalaması (Yaş Aralığı)	34.6 (min12-max57)	
Hasta Sayısı	30	100
Cins		
Kadın	20	66.7
Erkek	10	33.3
Transplantasyon Tipi		
Böbrek Transplantasyonu	13	43.3
AKİT*	9	30
OKİT**	8	26.7
Altta Yatan Hastalıklar		
Kronik Böbrek Yetmezliği	13	43.3
Kronik Myeloid Lösemi	3	10
Akut Myeloid Lösemi	3	10
Multipıl Myeloma	3	10
Ewing Sarkom	2	6.7
Hodgkin Lenfoma	2	6.7
Akut Lenfoblastik Lösemi	1	3.3
Burkitt Lenfoma	1	3.3
Plazma Hücreli Lösemi	1	3.3
Nöroblastoma	1	3.3
Transplantasyon Öncesi Alıcıların CMV Serolojik Göstergeleri		
IgG (+) IgM (-)	22	73.3
IgG (-) IgM (+)	1	3.3
IgG (-) IgM (-)	1	3.3
Bilinmeyen	6	20
Transplantasyon Öncesi Donörlerin CMV Serolojik Göstergeleri Göstergeleri		
IgG (+) IgM (-)	12	54.5
Bilinmeyen	10	45.5

*AKİT: Allojenik Kemik İliği Transplantasyonu

**OKİT: Otolog Kemik İliği Transplantasyonu

Tablo 2. Hastaların transplantasyon tipleri ve CMV DNA sonuçları
(Table 2. Transplantation types and CMV DNA results of patients)

Hastalar	CMV DNA	
	Pozitif (n)	Negatif (n)
Böbrek Transplantasyonu (n:13)	4	9
AKİT* (n: 9)	1	8
OKİT** (n: 8)	-	8
Toplam (n: 30)	5	25

*AKİT: Allojenik Kemik İliği Transplantasyonu

**OKİT: Otolog Kemik İliği Transplantasyonu

5. TARTIŞMA (DISCUSSION)

CMV dünya çapında geniş bir yayılım göstermekte ve tüm yaş grubunu etkileyebilmektedir [1]. Kemik iliği transplant alıcılarında transplantasyon sonrası dönemde alıcı ve vericinin durumu ile ilişkili olarak yaklaşık %50-90 arasında CMV enfeksiyonu ile karşılaşmakta ve bunların %30'unda semptomatik seyir izlenmektedir [4 ve 8]. CMV enfeksiyonu, böbrek transplant alıcılarında erken görülen doku reddinde önemli bir etkidir. Genellikle transplant alıcılarının %30-70'inde CMV enfeksiyonunun meydana geldiği ve bunlarda mortalite oranının %5 kadar olduğu gösterilmiştir [9]. Böbrek ve kemik iliği transplant alıcıları gibi ciddi immüsupresyonu olan bireylerde CMV'nin erken saptanması morbidite ve mortalitenin önlenmesi ve etkili antiviral tedaviye başlanması için gereklidir [4 ve 5]. Son zamanlarda CMV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında ve tedavinin takibinde gerçek zamanlı PCR yöntemi uygulanmaktadır [10, 11, 12 ve 13].

Gökahmetoğlu ve ark. [10] 54 KİT alıcısından elde ettikleri 450 örnekte CMV antijenemi testi ve gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile CMV varlığını araştırmışlardır. Araştırmacılar örneklerin %5.2'sinde her iki testi birlikte pozitif, %6'sında yalnızca antijenemi testini, %9.3'ünde ise sadece CMV DNA testini pozitif olarak bulmuşlardır. Kırk üç AKİT yapılan hastadan transplantasyon sonrası 100. güne kadar haftalık elde edilen 415 periferik kan örneğinde gerçek zamanlı PCR yöntemi ile CMV DNA varlığının araştırıldığı başka bir çalışmada, hastaların %51'inde viral reaktivasyon meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca kantitatif CMV PCR testinin KİT alıcılarında CMV reaktivasyonunun ve antiviral tedaviye cevabın izlenmesinde faydalı olabileceği bildirilmiştir [11]. Griscelli ve ark. nın [12] 16 KİT alıcısından elde edilen 197 örneğin dahil edildiği çalışmada ise PCR ile pozitif olarak bulunan 128 örneğin 66'sında (%51.5) CMV antijenemi testi negatif olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise 17 KİT alıcısının yalnızca 1'inde (%5.9) CMV DNA pozitif olarak saptanmış ve CMV'ye bağlı hastalık geliştiği belirlenmiştir. Bu hastanın transplantasyon öncesi CMV serolojik göstergeleri pozitif olduğu için reaktivasyon gelişmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Aitken ve ark. [13] 52 renal transplant alıcısında hibrid yakalama testi, PCR bazlı amplicor CMV monitor testi ve shell-vial yöntemi ile CMV'yi araştırmışlardır. CMV hastalığı gelişen 14 hastanın hepsinde hibrid yakalama ve amplicor CMV monitor testini pozitif olarak bulurken, shell-vial yöntemi ile sadece 10 hastada pozitiflik bulmuşlardır. Araştırmacılar CMV hastalığının saptanması için hibrid yakalama testi ve amplicor CMV monitor testinin shell-vial yöntemine üstün olduğunu göstermişlerdir. Piiparinen ve ark. [14] 27 erişkin karaciğer ve böbrek transplant alıcısından elde ettikleri 270 kan örneğinde CMV'yi CMV antijenemi testi, Cobas Amplicor CMV Monitor testi ve kendi geliştirdikleri kantitatif Taqman gerçek zamanlı PCR testi ile araştırmışlardır. Hastaların 19'unda CMV antijeni ve DNA'sı gösterildiğini, bunların 13'ünde semptomatik CMV enfeksiyonu geliştiğini ve gansiklovir ile tedavi edildiğini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar üç test arasında istatistiksel olarak önemli korelasyon bulduklarını, Taqman gerçek zamanlı CMV PCR testinin kolay ve hızlı uygulanabilir olduğunu, ayrıca karaciğer ve böbrek transplant hastalarında CMV enfeksiyonunun tanısı ve takibi için en iyi alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Madi ve ark. [15] böbrek transplantasyonu yapılan 255 hastada CMV DNA araştırmışlar ve %24'ünde pozitif bulmuşlardır. Bunların %68.5'inin semptomatik, %31.5'inin ise asemptomatik olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise 13 böbrek transplantasyonu yapılan hastanın 4'ünde (%30.8) CMV DNA pozitif olarak bulunmuş ve bunların yalnızca 1'inde (%7.7) CMV'ye bağlı hastalık geliştiği belirlenmiştir. Seronegatif olan bu hastaya kadavradan nakil yapıldığı için donör serolojisi bilinmemektedir. Diğer 3 hastada (%23.1) CMV DNA pozitif olarak bulunmasına rağmen, CMV'ye bağlı hastalık gelişmediği kaydedilmiştir. Bu durum latent enfeksiyon, asemptomatik viremi, düşük viremi yada testin yanlış pozitifliğine bağlı olabilir. Bizim çalışmamıza benzer olarak Boland ve ark. da [16] CMV hastalığı gelişmeyen transplant alıcılarında PCR ile CMV DNA'yı pozitif olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda hastaların 25'inde (%83.3) takip süresince CMV DNA negatif olarak bulunmuş ve CMV'ye bağlı hastalık gelişmediği görülmüştür.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSION AND RECOMMENDATION)

Sonuç olarak, bu çalışmada CMV hastalığı insidansı düşük bulunmasına rağmen, meydana getireceği sonuçlar göz önüne alındığında transplant alıcılarının transplantasyon sonrası özellikle 1-4 aylık dönemde PCR ile CMV DNA araştırılarak CMV enfeksiyonu yönünden takip edilmesinin faydalı olacağı kanaatine varıldı.

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGMENT)

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 01-011-18 no'lu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Hodinka, R.L., (2007). Human Cytomegalovirus. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgense, J.H., Landy, M.L., Pfaller, M.A., (eds). Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. ASM Press: Washington DC, pp: 1549-1563.
2. Ljungman, P., Griffiths, P., and Paya, C., (2002). Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients. Clin Infect Dis, 34(8), pp1094-1097.
3. Schvoerer, E., Henriot, S., Zachary P., Freitag R., Fuchs, A., Fritsch, S., Risch, S., Meyer, N., Caillard, S., Lioure, B., and Stoll-Keller, F., (2005). Monitoring low cytomegalovirus viremia in transplanted patients by a real-time PCR on plasma. Monitoring low cytomegalovirus viremia in transplanted patients by a real-time PCR on plasma. J Med Virol, 76(1), pp: 76-81.
4. Crumpacker, C.S., (2005). Cytomegalovirus. In: Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R., (eds). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, pp: 1787-1789.
5. Britt, W.J. and Alford, C.A., (1996). Cytomegalovirus. In: Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., (eds). Fields Virology, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp: 2493-2523.
6. Çolak, D. ve Ögünç, D., (1999). Sitomegalovirus enfeksiyonlarında tanı yöntemleri. Flora, 4(2), pp: 82-89.

7. Yakushiji K., Gondo H., Kamezaki K., Shigematsu K., Hayashi, S., Kuroiwa, M., Taniguchi, S., Ohno, Y., Takase, K., Numata, A., Aoki, K., Kato, K., Nagafuji, K., Shimoda, K., Okamura, T., Kinukawa, N., Kasuga, N., Sata, M., and Harada, M., (2002). Monitoring of cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation: comparison of an antigenemia assay and quantitative real-time polymerase chain reaction. *Bone Marrow Transplant*, 29(7), pp: 599-606.
8. Şenol, E., (2001). Kemik iliği transplantasyonları ve CMV infeksiyonları: Klinik bulgular. I. Ulusal CMV Simpozyumu Tanı ve Tedavi Yaklaşımları: Sorunlar ve Çözümleri Kitabı, Antalya, s: 53-54.
9. Van der Bij, W. and Speich, R., (2001). Management of cytomegalovirus infection and disease after solid organ transplantation. *Clin Infect Dis*, 33(suppl 1), pp: 33-37.
10. Gokahmetoglu, S., Kaynar, L., Altuntas, F., Yildiz, O., Cetin, M., and Kocyigit, I., (2008). Detection and quantification of cytomegalovirus in bone marrow transplant recipients by real time PCR and pp65 antigenemia. *Saudi Med J*, 29(11), pp: 1673-1675.
11. Ghaffari, S.H., Obeidi, N., Dehghan, M., Alimoghaddam, K., Gharehbaghian, A., and Ghavamzadeh, A., (2008). Monitoring of cytomegalovirus reactivation in bone marrow transplant recipients by real-time PCR. *Pathol Oncol Res*, 14(4), pp: 399-409.
12. Griscelli, F., Barrois, M., Chauvin, S., Lastere, S., Bellet, D., and Bourhis, J.H., (2001). Quantification of human cytomegalovirus DNA in bone marrow transplant recipients by real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 39(12), pp: 4362-4369.
13. Aitken, C., Barrett-Muir, W., Millar, C., Templeton K., Thomas, J., Sheridan, F., Jeffries, D., Yaqoob, M., and Breuer, J., (1999). Use of molecular assays in diagnosis and monitoring of cytomegalovirus disease following renal transplantation. *J Clin Microbiol*, 37(9), pp: 2804-2807.
14. Piiparinen, H., Höckerstedt, K., Grönhagen-Riska, C., and Lautenschlager, I., (2004). Comparison of two quantitative CMV PCR tests, Cobas Amplicor CMV Monitor and TaqMan assay, and pp65-antigenemia assay in the determination of viral loads from peripheral blood of organ transplant patients. *J Clin Virol*, 30(3), pp: 258-266.
15. Madi, N., Al-Nakib, W., Mustafa, A.S., Saeed, T., Pacsa A., and Nampoory, M.R., (2007). Detection and monitoring of cytomegalovirus infection in renal transplant patients by quantitative real-time PCR. *Med Princ Pract*, 16(4), pp: 268-273.
16. Boland, G.J., de Weger, R.A., Tilanus, M.G., Ververs, C., Bosboom-Kalsbeek K., and de Gast, G.C., (1992). Detection of cytomegalovirus (CMV) in granulocytes by polymerase chain reaction compared with the CMV antigen test. *J Clin Microbiol*, 30(7), pp: 1763-1767.