

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI



TEDAVİ ALMAMIŞ HIV POZİTİF YENİ TANI ALAN
HASTALARDA HLA-B57:01 ALLEL PREVELANSININ
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR) METODU İLE
SAPTANMASI

DOKTORA TEZİ

AZİZ ALPER BİTEN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU

BOLU, AĞUSTOS - 2022

KABUL VE ONAY SAYFASI

Aziz Alper BİTEN tarafından hazırlanan “**Tedavi Almamış HIV Pozitif Yeni Tanı Alan Hastalarda HLA-B57:01 Allel Prevelansının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Metodu ile Saptanması**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğuyla kabul edilmiştir. 04/08/2022

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Üye
Unvanı Adı SOYADI
Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 04/07/2022 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 25 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 25.05.2021 tarihi ve 2021/136 sayısı ile etik izin alınmıştır.

.....
AZİZ ALPER BİTEN

ÖZET

**TEDAVİ ALMAMIŞ HIV POZİTİF YENİ TANI ALAN HASTALARDA
HLA-B57:01 ALLEL PREVELANSININ POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU (PCR) METODU İLE SAPTANMASI
DOKTORA TEZİ
AZİZ ALPER BİTEN
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. MUHAMMET GÜZEL KURTOĞLU)**

BOLU, TEMMUZ - 2022

XII + 40

Ülkemizde HIV enfeksiyonu sıklığında giderek artan bir eğilim görülmektedir. HIV tedavisinde Abakavir'in kullanımı için en büyük kontrendikasyon olan aşırı duyarlılık sendromu ile ilişkili bulunan HLA-B57:01 allel sıklığı ile ilgili ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışma bulunmamaktadır. Retrospektif olan bu çalışma için Ocak-Aralık 2021 tarihleri arasında "Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarına" HLA-B57:01 testi için gönderilen yeni tanı almış 235 hastaya ait %3 EDTA solusyonu içeren kan tüpüne alınmış kan örneklerinden izole edilen DNA örnekleri dahil edilmiştir. HLA-B57:01 allel sıklığının allel spesifik PCR ile taranması amaçlanmış, HLA-B57:01 allel pozitif bulunan örneklerin değerlendirilmesi için seminested PCR yapılmıştır. DNA örneklerinin izlenebilmesi için EDTA 0.5 M, 10XTBE solusyonları hazırlanmıştır. Verilerin analizi SPSS15 paket programında yapılmıştır. Kategorik karşılaştırmalar için Kikare ve Fisher'in Kesin Testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ alınan sonuçlar anlamlı kabul edildi. Çalışma grubunda HLA-B57:01 allel varlığı yönünden test edilen toplam 235 örneğin 5'inde (%2.12) allel pozitifliği saptandı. Bu hastaların 3'ünün 18-25 yaş, 2'sinin ise 26-35 yaş grubunda olduğu görüldü. Hastaların başvuru merkezlerinin coğrafik değerlendirmesi sonucunda örneklerin 126'sının (%53.6) İç Anadolu, 64'ünün (%27.2) Karadeniz, 26'sının (%11.1) Akdeniz, 8'inin (%3.4) Güney Doğu Anadolu, 4'ünün (%1.7) Ege, 4'ünün (%1.7) Marmara ve 3'ünün (%1.3) Doğu Anadolu Bölgesinde tanı aldığı belirlendi. Pozitif bulunan 5 hastanın 35 yaş ve altındaki hasta grubunda olduğu belirlendi ve 35 yaşın altında olmanın istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.044$, $OR=4.056$).

HLA-B57:01 pozitifliği ile cinsiyet arasındaki ilişkide; pozitif hastaların tümünün erkek olduğu, tüm erkek hastaların %2.8'inin HLA-B57:01 alleli taşıdığı belirlendi ($p=0.371$).

ANAHTAR KELİMELER: HIV, HLA-B57:01 Allel Pozitif, Abakavir, Aşırı Duyarlılık Sendromu, Seminested PCR

ABSTRACT

DETERMINATION OF HLA-B57:01 ALLELE PREVALENCE BY POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD IN UNTREATED HIV POSITIVE PATIENTS WITH NEW DIAGNOSIS

PHD THESIS

AZİZ ALPER BİTEN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF.DR. MUHAMMET GÜZEL KURTOĞLU)

BOLU, JULY 2022

XII + 40

There is an increasing trend in the frequency of HIV infection in our country. There is no multicenter study with HLA-B57:01 allele frequency associated with hypersensitivity syndrome, which is the biggest contraindication for the use of Abacavir in HIV treatment. This retrospective study includes the DNA samples isolated from blood samples taken into a blood tube containing 3% EDTA solution which belong to 235 newly diagnosed patients who were sent for HLA-B57:01 test to 'General Directorate of Public Health of Türkiye, Microbiology Reference Laboratories and Biological Products Department, National HIV-AIDS Verification and Viral Hepatitis Reference Laboratories' between January-December 2021. It was aimed to screen the frequency of the HLA-B57:01 allele by allele-specific PCR. EDTA 0.5 M, 10XTBE solutions were prepared to monitor DNA samples. Data analysis was done in the SPSS15 package program. Pearson Chi-square and Fisher's Exact Test were used for categorical comparisons. Statistically, the results with $p < 0.05$ were considered significant. Allele positivity was detected in 5 (2.12%) of 235 samples tested for the presence of HLA-B57:01 allele in the study group. It was observed that 3 of these patients were in the age group of 18-25, and 2 of them were in the age group of 26-35. As a result of the geographical evaluation of the patients' referral centers, 126 (53.6%) of the samples were Central Anatolia, 64 (27.2%) Black Sea, 26 (11.1%) Mediterranean, 8 (3.4%) South East Anatolia, 4 (1.7%) Aegean, 4 (1.7%) Marmara and 3 (1.3%) were Eastern Anatolia Region. It was determined that 5 positive patients were in the group of patients aged 35 years and younger, and being younger than 35 years was found to be statistically related ($p=0.044$, $OR=4.056$).

In the relationship between HLA-B57:01 positivity and gender; It was determined that all positive patients were male, and 2.8% of all male patients carried the HLA-B57:01 allele ($p=0.371$).

KEYWORDS: HIV, HLA-B7:01 Allele Positive, Abacavir, Hypersensitivity Syndrome, Seminested PCR.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
FOTOĞRAF LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Genom Yapısı	4
2.2 Replikasyon Döngüsü	7
2.3 Epidemiyoloji	9
2.3.1 Bulaş Yolları.....	10
2.4 Klinik	11
2.4.1 Enfeksiyonun Seyri	11
2.4.2 Patogenez.....	12
2.5 Laboratuvar Tanısı.....	13
2.6 Tedavi	15
2.7 HLA-B Genotipleri ile Abakavir Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu İlişkisi... 16	
2.7.1 İnsan Lökosit Antijenleri (HLA)	16
2.7.2 HLA Tiplendirme Metotları	17
2.7.3 Abakavir Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1 Bu Çalışma Örneklerinin Seçimi	22
3.2 Tam Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	22
3.3 PCR Yöntemiyle HLA-B57:01 Allel Saptanması	23
3.3.1 PCR Testi İçin Kullanılan Primerler:	23
3.3.2 Reaksiyon Karışımının Hazırlanması	23
3.3.3 DNA'nın Gösterilmesi.....	26
3.3.4 Sonuçların Değerlendirilmesi	27
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
7. KAYNAKLAR	36

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. HIV-1, HIV-2, SIV Filogenetik İlişkilerinin Şematize Görünümü	4
Şekil 2.2. HIV Virionun Şematize Görünümü.....	5
Şekil 2.3. HIV-1 Genom Yapısı.....	6
Şekil 2.4. HIV Replikasyon Döngüsü.....	8
Şekil 2.5. HIV Enfeksiyonu Evrelerine Göre in vitro Tanı Metotlarının Kullanımı	13
Şekil 2.6. HLA Lokusunun Kromozom Üzerinde Şematize Görüntüsü.....	17
Şekil 2.7. Dünya Geneline HLA-B57:01 Sıklığı	21



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. HIV Genom Yapısındaki Genler.....	5
Tablo 3.1. Kullanılan Primer Dizileri.....	23
Tablo 3.2. PCR ile HLA-B57 Allel Tespiti için İlk PCR Reaksiyon Karışımının İçeriği	24
Tablo 3.3. Amplifikasyon Döngüsü- İlk PCR Reaksiyonu	24
Tablo 3.4. PCR ile HLA-B57:01 Allel Tespiti için Seminested PCR Reaksiyon Karışımının İçeriği	25
Tablo 4.1. Hastaların Yaş Grupları ve Cinsiyetlerine Göre Dağılımları.....	28
Tablo 4.2. HLA-B57:01 Allel Pozitifliğinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı.....	29
Tablo 4.3. HLA-B57:01 Allel Pozitifliğinin Cinsiyete Göre Dağılımı	29

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 2.1. HIV-1/2 Antikor Ayırt Edici Hızlı Doğrulama Test Kiti Görünümü	14
Fotoğraf 2.2. Abakavir Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu.....	20
Fotoğraf 3.1. HLA-B57:01 Pozitif ve Negatif Örneklerin Jel Elektroforez Sonrası Görüntüsü.....	25



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

bç	:Baz çifti
cDNA	:Komplementer DNA
dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribonükleik asit
dNTP	:Deoksinükleotit
IU	:Uluslararası birim
µl	:Mikrolitre
µM	:Mikromolar
ml	:Mililitre
mM	:Milimolar
NRTI	:Nükleozid reverse transkriptaz inhibitörleri
NNRTI	:Non-nükleozid reverse transkriptaz inhibitörleri
PI	:Proteaz inhibitörü
PZR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	:Ribonükleik asit
sn	:Saniye
U	:Ünite/ birim
WHO	:Dünya sağlık örgütü

TEŞEKKÜR

Öğrenim hayatımın en önemli basamağı olan Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yaptığım Mikrobiyoloji Doktora Programında tüm bilgi birikimini sabırla aktaran, aynı zamanda tez danışmanım olan, araştırma konusunun belirlenmesi ve tez izleme dönemindeki yönlendirme ve katkılarından dolayı Fakülte Dekanı ve Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU'na, tüm bilgi ve birikimlerini aktarmalarının yanısıra laboratuvar çalışmalarında da şahsıma pratik deneyim kazandırmak için gayret ve sabır gösteren Doç. Dr. Fatma AVCIOĞLU ve Doç. Dr. Mustafa BEHÇET'e, bizlere bu alanda yetkinlik kazandırmak için samimiyetle gayret gösteren Tıbbi Parazitoloji hocalarım Prof. Dr. Erol AYZAZ ve Dr. Öğretim Üyesi Kerem YAMAN'a, tez çalışmamı yapmam için gerekli izinleri verme konusunda desteklerini esirgemeyen T.C. Sağlık Bakanlığı ve Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü bürokratlarına, tez çalışmamı gerçekleştirdiğim Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı ekibine ve her daim çalışmalarında bilgi beceri tecrübe ve deneyimleriyle yol gösteren laboratuvar sorumlusu Doç. Dr. Tülin DEMİR'e, aynı zamanda tez içeriğine ait şekil çizimlerindeki teknik destekleri ve katkılarından dolayı Ercan GÜNDÜZ, Muhammet Nurullah DUYMAZ ve Damla ÜNAL'a şükranlarımı sunarım.

Son olarak; doktora sürecinde idari soru ve sorunlarıma sabırla ve hızlı bir şekilde çözüm sunan Lisansüstü Eğitim Enstitüsü çalışanlarına ayrı ayrı teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü (Human Immunodeficiency virüs, HIV) Lentivirinae alt ailesinden zarflı bir retrovirüstür. CD4+T lenfositlerini tahrip ederek enfeksiyonlara karşı bağışıklığı düşürür. Tedavi edilmediği takdirde bağışıklık sistemi baskılanarak “Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu” (AIDS) tablosuna neden olur ve hastada ölümle sonuçlanabilen fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilmektedir.

Başlangıçta HIV enfeksiyonunun homoseksüel erkeklerin cinsel ilişkisi sonucu sadece belirli ve sınırlı bir grubu etkilediği değerlendirilmiş olsa da günümüz şartlarında bunun böyle olmadığı, aksine dünya popülasyonunu ilgilendiren ve çözülmeyi bekleyen bir halk sağlığı sorunu haline geldiği anlaşılmıştır. Birleşmiş Milletler Uluslararası Hastalık ile Mücadelede HIV/AIDS Ortak Programı'nın (UNAIDS) HIV epidemisinin sonlandırılmasına yönelik belirlediği 90-90-90 global HIV hedefleri doğrultusunda enfekte kişilerin %90'ının saptanması, bunların %90'ının antiretroviral tedavi (ART) alması ve tedavi alanların da %90'ında ART ile viral baskılanmanın sağlanması durumunda epideminin 2030 yılına kadar halk sağlığı tehdidi olmaktan çıkarılması” küresel hedef olarak belirlenmiştir (9). Dünyada yaklaşık 40 milyon, ülkemizde ise en güncel resmi veri olarak Kasım 2021 tarihi itibarıyla yaklaşık 29284 HIV enfekte birey olduğu bildirilmiştir (8, 9, 55, 47, 71).

İki serotipi bulunan virüs HIV-1 ve HIV-2 olarak ayırt edici özelliklere sahiptir. HIV-1 tüm dünyada yaygın olarak görülmekte iken, daha az rastlanılan serotip olan HIV-2 sıklıkla Batı Afrika ülkelerinde görülmekle birlikte Hindistan ve Güney Amerika ülkelerinde daha az sıklıkla görülmektedir. Her iki virüs tipi de enfeksiyona ve AIDS tablosuna neden olmaktadır. Ancak HIV-2 enfekte bireylerde rastlanan serbest virüs yükü, HIV-1 enfekte bireylere kıyasla oldukça düşüktür (8, 47, 55).

Tedavide viral supresyonu sağlayan ilaçlar başarı ile kullanılmakta fakat enfeksiyonda tamamen iyileşme henüz sağlanamamıştır. Enfekte kişilerde antiviral ilaç direnci gelişimini engellemek için kombine antiretroviral tedavi (HAART) verilmektedir. Tedavide sıklıkla iki nükleozid analog reverse transkriptaz inhibitörü (NRTI) ile birlikte bir non-nükleozid analog reverse transkriptaz inhibitörü (NNRTI), proteaz inhibitörü (PI) ya da integraz inhibitörü (INSTI) grubundan birisi

kullanılmaktadır (45, 46, 54). Tüm bu gruplar arasında kullanım öncesinde ek test yapılması gereken tek ilaç NRTI grubundan bir nükleozid analogu olan Abakavirdir. Abakavir'e karşı gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonu sebebi HLA-B57:01 alleli varlığı ile yakın ilişkili olarak bulunmuştur. Fakat allel prevalansı coğrafik bölgelere ve ırklara göre değişiklik göstermektedir (36, 51).

Ülkemizde de HIV enfeksiyonu sıklığında giderek artan bir eğilim görülmektedir. HIV tedavisinde ilaç etkileşimi az olan ve uzun vadede düşük toksisite profiline sahip bir ajan olan Abakavir'in kullanımını için en büyük kontrendikasyon olan aşırı duyarlılık sendromu ile ilişkili bulunan HLA-B57:01 allel sıklığı ile yapılan çalışmalar çok kısıtlıdır ve bu çalışma niteliğinde ülkemizde çok merkezli bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle daha geniş kapsamlı çalışmalara gerek duyulmaktadır.

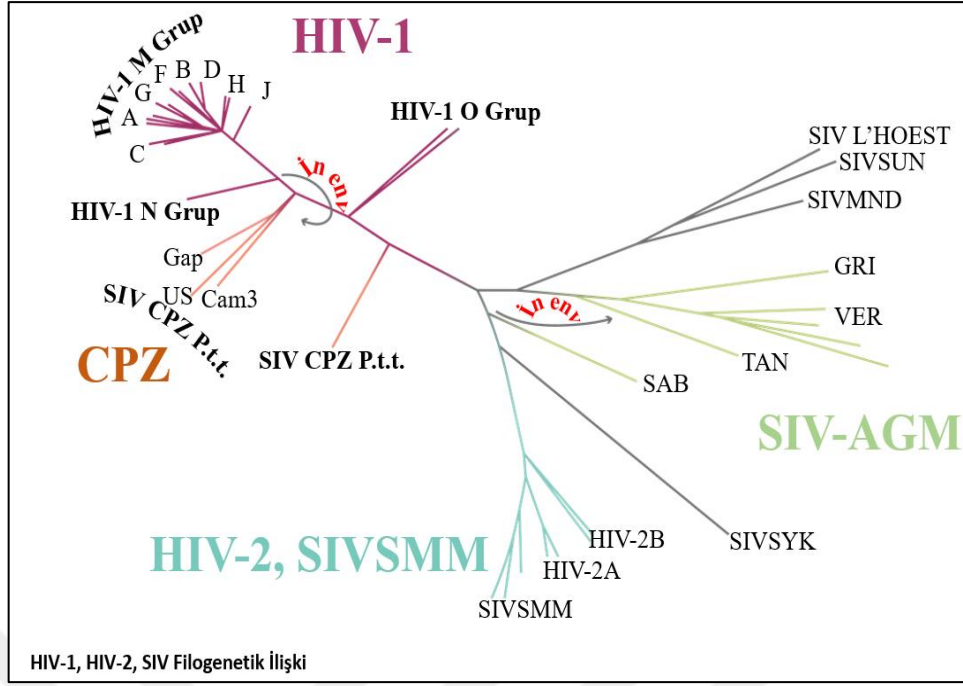
Bu çalışmada yeni HIV tanısı almış hasta grubundaki HLA-B57:01 allel sıklığının allel spesifik PCR ile taranması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

1980'li yılların başında Amerika Birleşik Devletleri'nin çeşitli eyaletlerinde önceden sağlıklı genç erkeklerde ciddi immün yetmezlik ile karakterize başta *Pneumocystis jirovecii* pnömonisi olmak üzere fırsatçı enfeksiyon ve nedeni belirlenemeyen enfeksiyon tablolarındaki artış tüm tıp camiasının dikkatini çekmiştir (1). CD4 T-lenfosit sayısında belirgin azalmaya bağlı immün yetmezlik ile karakterize bu sendromun özellikle homoseksüel erkeklerde, intravenöz ilaç kullanan veya kan transfüzyonu yapılan hastalarda ve hemofili hastalarında görülmesi nedeniyle bulaş yolunun kontamine kanla veya enfekte birey ile cinsel yolla temas olduğu belirlenmiştir (1, 2, 8).

Fransa Pasteur Enstitüsünden Montagnier ve arkadaşları 1983'de yaygın lenfadenopatisi olan asemptomatik bir kişinin lenf nodlarından etkeni izole ederek virüsü Lymphadenopathy-associated virus (LAV) olarak tanımlamıştır (3). Hemen ardından Amerika Birleşik Devletleri'nden Gallo ve arkadaşları izole ettikleri retrovirüse İnsan T Hücreli Lösemi Virüsü Tip 3 (Human T-cell Leukemia Virus Type III, HTLV-III) adını vermişlerdir (4). Filogenetik çalışmalar ile yeni tanımlanan her iki virüsün de AIDS vakaları ile ilişkili lentivirus genusuna ait tipik morfolojik ve genetik özellikleri taşıdığı belirlenerek aynı virüs olduğu belirlenmiş ve İnsan Edinsel Bağışıklık Yetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus, HIV) olarak tanımlanmıştır (44).

Virüsün tanımlanmasından beş yıl sonra 1986'da Batı Afrika'da yaşayan iki AIDS hastasında HIV ile benzer tablo oluşturan ancak farklı immunolojik özelliğe sahip bir retrovirus tespit edilmiştir. Bu nedenle ilk tanımlanan virüse HIV-1, yeni virüse ise HIV-2 adı verilmiştir (5). Her iki tip virüsün birçok biyolojik karakterleri benzerdir ancak nükleotid dizilimleri %55 oranında benzerlik göstermektedir. HIV-1 şempanzelerde bulunan Simian Immunodeficiency Virüs'e (SIV), HIV-2 ise Sooty mangabey (*Cercocebus atys atys*) isimli maymunlarda izlenen SIV'e benzerlik göstermektedir (44, 47) (Şekil 2.1.). Batı Afrika'da maymunların yerel halk tarafından beslenme amacı ile kullanılması ve pet olarak beslenmesi sonucunda yakın temasa bağlı olarak HIV-2'nin, SIV'nin maymunlardan insana zoonotik bulaşı olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2.1. HIV-1, HIV-2, SIV Filogenetik İlişkilerinin Şematize Görünümü

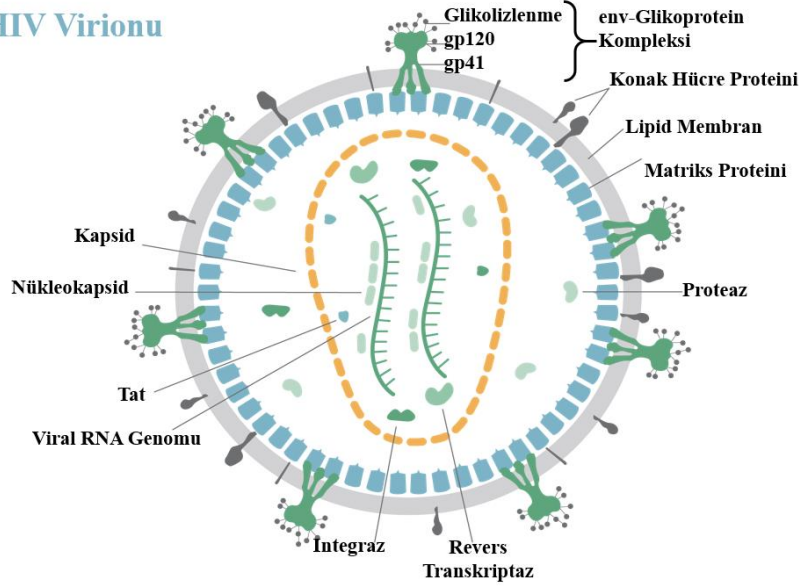
Bu iki serotipten tüm dünyada yaygın olan virüs tipi HIV-1'dir (44). HIV-2 için ise; son yıllarda Batı Afrika, Avrupa, Brezilya ve Hindistan'dan vakalar bildirilmekte ve çoğu Batı Afrika'da olmak üzere iki milyonun üzerinde kişinin HIV-2 ile enfekte olduğu kabul edilmektedir (44). HIV-2, HIV-1'e göre seksüel yolla üç, vertikal yolla ise on kez daha az bulaşmaktadır (6, 7, 47).

HIV her gün yaklaşık 1010 virion üretimi ile hızlı replikasyon yeteneği, reverse transkripsiyon sırasında yüksek hata sıklığı ve DNA replikasyonunda hataları düzeltememe nedeniyle çok yüksek genetik çeşitliliğe sahiptir (8, 30, 55, 56).

2.1 Genom Yapısı

HIV Retroviridae ailesinden Lentivirus genusuna ait tek zincirli bir RNA virüsüdür (8, 55, 57). Virion yapısı pozitif polariteli iki adet tek iplikli RNA'dan oluşmaktadır. İkozahedral bir yapı içeren ve zarfla çevrili olan virüsün 100 nm büyüklüğünde nükleokapsid yapısı bulunmaktadır. Membranda 72 adet çıkıntı şeklinde zarf peplomerleri şeklinde gp160 proteini yer almaktadır (Şekil 2.2.).

HIV Virionu



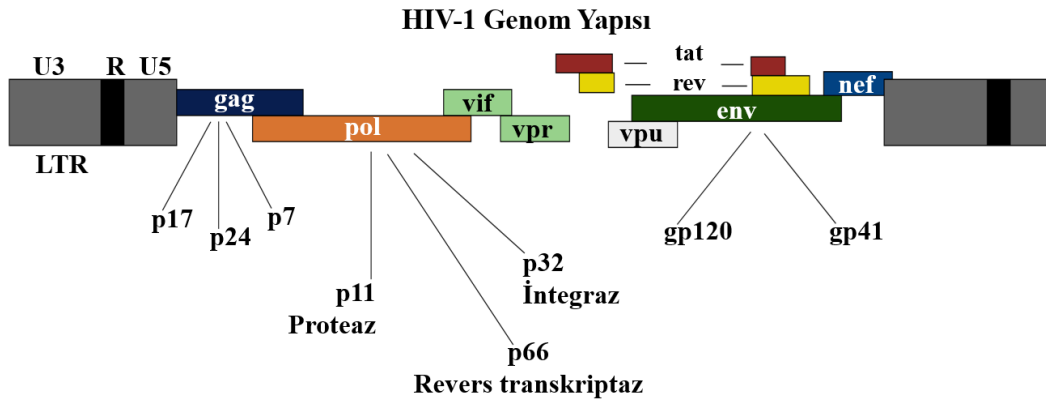
Şekil 2.2. HIV Virionun Şematize Görünümü

Genom yedi yapısal proteinden (LTR, TAR, RRE, PE, SLIP, CRS ve INS) oluşmaktadır. Hücreleri enfekte etme yeteneğinin kontrolü, yeni virüslerin replikasyonu veya hastalığa neden olan proteinler için düzenleyici özellikte olan genlerden (gag, pol, env, tat, rev, nef, vif, vpr, vpu) oluşmaktadır (34). Bu gen bölgelerinden gag, pol ve env yeni virüs partiküllerinin yapısal proteinlerinin üretimi için gerekli bilgiyi içermektedir (8, 34, 47). HIV genomunda yer alan gen bölgeleri ve kodlanan proteinler Tablo 2.1. ve Şekil 2.3.'te gösterilmektedir.

Tablo 2.1. HIV Genom Yapısındaki Genler

Gen	Kodlanan protein	Proteinin fonksiyonu
Tüm retrovirüslerde bulunan yapısal genler		
gag	p24, p7	Nükleokapsid
	p17	Matriks
pol	Reverse transkriptaz	RNA genomu DNA'ya transkribe eder
		Çift sarmallı DNA yapılması için RNA'yı degrade eder (Ribonükleaz H)
	Proteaz	Prekürsör peptidleri ayırır
	İntegraz	Viral DNA'yı konak hücre DNA'sına entegre eder
env	Gp120	CD4 proteinine bağlanma

	Gp41	Konak hücreye bağlanma
HIV replikasyonu için gerekli düzenleyici genler		
tat	tat	Viral genlerin transkripsiyonunun aktivasyonu
rev	rev	Nukleustan sitoplazmaya geç mRNA'ların transportu sağlar
HIV replikasyonu için gerekli olmayan düzenleyici genler (aksesuar genler)		
nef	nef	Enfekte hücrelerin yüzeyindeki klas 1 MHC proteinleri ve CD4 hücrelerini azaltır, enfekte olmayan sitotoksik T hücrelerin ölümünü indükler
vif	vif	APOBEC3G (Retroviral DNA hipermutasyonuna neden olan protein) aktivitesini inhibe ederek enfektiviteyi artırır
vpr	vpr	Bölünmeyen hücrelerde viral kor bölgesinin sitoplazmadan nukleusa transportu sağlar
vpu	vpu	Hücreden virüsün salınımını artırır



Şekil 2.3. HIV-1 Genom Yapısı

Viral kapsidin ana bileşenleri gruba özgü antijen (gag) proteinleridir. Gag, matriks (MA) ve nükleokapsid dahil olmak üzere iki nükleik asit bağlanma alanına sahiptir. Gag proteininin görevi viral genomik RNA'yı tanımak, bağlamak ve birleştirici virionlar halinde paketlemektir (26). Pol bölgesi, reverse transkriptaz, proteaz ve integras gibi viral replikasyon için gerekli enzimleri kodlar (24). Viral DNA'nın sentezinden ve enfeksiyondan sonra konakçı DNA'ya entegrasyonundan sorumludur. Pol geni ile kodlanan integras hücre nükleusuna geçen genomu konak

hücre DNA'sına entegre eder ve "provirus" yapısını oluşturur. Viral zarf, gp120 (yüzeyde serbest kısım) ve üç gp41 (yüzey ve membrana gömülü) molekülünden oluşur. Gp120 HIV'in hücre yüzeyindeki CD4 reseptörlere tutunması ve birleşmesinde rol oynar. Transmembran proteini olan gp41 ise virüsün hücre içerisine girişinde membranlar arası füzyon yapma özelliğine sahiptir. Virüsün bulaşıcı olmasını sağlayan ise env proteini. Env geni tarafından kodlanan zarf proteini, virüsün hedef hücrelere bağlanmasına ve viral zarfı hedef hücrenin zarı ile kaynaştırmasına izin vererek viral içerikleri hücreye salar ve enfeksiyon döngüsünü başlatır (27, 35).

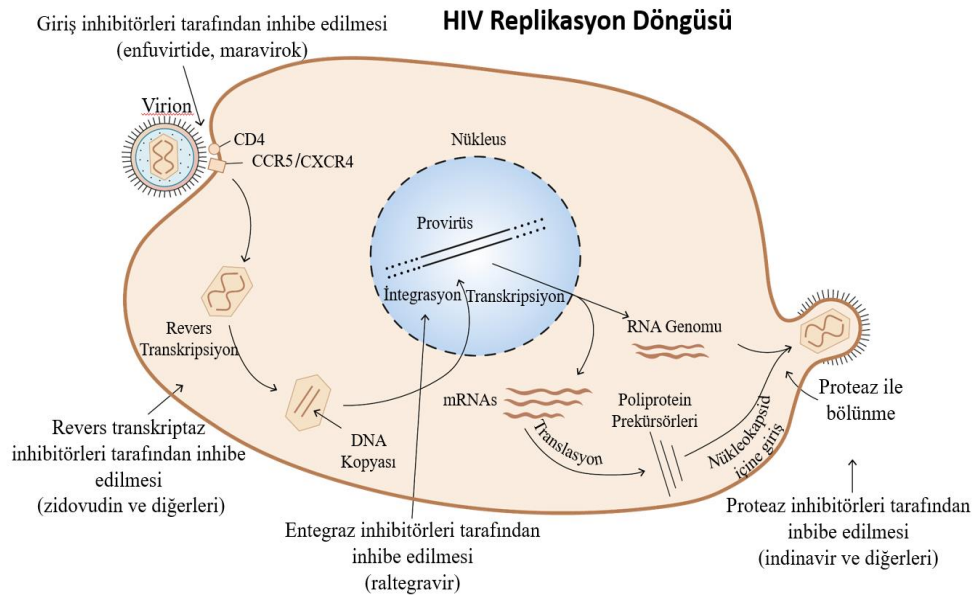
Virionda bulunan diğer enzimler, RNA'ya bağımlı DNA polimeraz (Reverse transkriptaz; RT), DNA'ya bağımlı DNA polimeraz, Ribonükleaz H (RNaz H)'dir (28). RNaz H aktivitesi, retroviral yaşam döngüsünde de gereklidir, RNase H aktivitesinden yoksun retrovirüsler bulaşıcı değildir (29).

Virüs; yapısındaki "env" ve "gag" bölgelerinin dizi analizine göre; "M", "N", "O" ve "P" olmak üzere dört gruba ve gp120'yi kodlayan genin baz dizilimi farklılıklarına göre ise dokuz alt tipe ayrılmaktadır (8, 56). "M" grubu tüm izolatların %98'ini oluşturmaktadır. Epideminin başlarında tüm enfeksiyonların %20'sinden fazlasını oluştururken günümüzde yaklaşık %1'inden sorumlu olduğu belirlenen "O" grup virüsleri, "M" grup virüsleri ile %65 homoloji göstermektedir. Birden fazla alt tip ile oluşan ko-enfeksiyonlarda Circulating Recombinant Form (CRF) olarak tanımlanan rekombinant form oluşumu görülmektedir. Kuzey Amerika ve Avrupa'da "B", Afrika'da çoğunlukla "A" ve "D", Afrika ve Asya'da "C" en yaygın görünen alt tiplerdir. Son yıllarda rekombinant formların sıklığında artış olduğu da bildirilmektedir. Sekiz alt tipi (A-H) bulunan HIV-2 virüsünün "A" ve "B" tipleri daha sık görülmektedir. HIV-2' nin HIV-1 virüsüne göre bulaşma riski daha düşük olduğundan düşük viral yük ile seyirli enfeksiyon tablosu gözlenmektedir. Bununla birlikte AIDS tablosuna kadar geçen süre HIV-1'de daha hızlı (7-10 yıl) iken, HIV-2 için bu sürenin HIV-1'e kıyasla daha uzun vadede (10-25 yıl) olduğu saptanmıştır (8, 56, 57).

2.2 Replikasyon Döngüsü

HIV virionu, yüzeyindeki glikoproteinlerin hedef hücre üzerindeki reseptörlere adsorpsiyonu ve ardından viral zarfın hedef hücre membranı ile füzyonu ve HIV kapsidinin hücreye salınmasıyla makrofajlara ve CD4+ T

hücrelerine girer. Hücreye giriş, gp160 zarf kompleksinin HIV viral zarf üzerinde ve hem CD4 hem de bir kemokin yardımcı reseptörünün (genellikle CCR5 veya CXCR4) hücre yüzeyinde etkileşimi ile başlar (8, 55). Füzyonun ilk adımı, gp120'nin CD4'e bağlanmasıdır. Akabinde zarf kompleksi yapısal bir değişikliğe uğrar ve gp120'nin kemokin reseptör bağlanma alanlarını açığa çıkararak hedef kemokin reseptörü ile etkileşime girmesine izin verir bununla beraber virüs ve hücre zarlarını birbirine yaklaştırır, zarların füzyonuna ve ardından viral kapsidin girişine izin verir. Viral kapsid hücreye girdikten sonra, reverse transkriptaz enzimi linear çift iplikli DNA haline çevrilir ve her iki ucunda Long Terminal Repeat'ler (LTRs) yer alır (8, 25, 31, 47). Viral DNA'nın konak hücre genomuna entegrasyonu integraz ile gerçekleştirilir ve "provirus" oluşur. Entegrasyon sonrasında virüs latent hale geçer ve bir süre boyunca virüs konağın immun sistemi tarafından tespit edilemez hale gelir. Virüs primer enfeksiyondan sonra on yıla kadar latent kalır, bu süreç sırasında herhangi bir semptom izlenmez. Ya da entegre olan viral DNA'nın transkripsiyonu sonrasında konak hücrenin mekanizmaları ile yeni RNA genomu ve viral proteinler oluşur ve hücreden yeni virüs partikülleri salınımı ile sonuçlanır. Yalnızca olgun virionların başka bir hücreyi enfekte edebilme özelliği olması nedeniyle proteaz aracılığı ile virionun olgunlaşma süreci tamamlanır (8, 25, 31, 32) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. HIV Replikasyon Döngüsü

2.3 Epidemiyoloji

1981 yılında enfeksiyonun ilk tanımlandığı andan itibaren dünya genelinde her yaş grubundan yaklaşık 40 milyon nüfusta enfeksiyona neden olan HIV, günümüzde de en önemli halk sağlığı sorunu olmaktan sıyrılamamıştır. Bu epideminin sonlandırılması amacıyla Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Programı (UNAIDS), HIV'in küresel kapsamda hedefler oluşturmuş ve 2020 yılı başlangıç olmak üzere HIV ile enfekte bireylerin %90'ının tanı almasını, tanı alanların %90'ının tedavi almasını ve tedavi alan bireylerin de %90'ında viral baskılanmanın sağlanmasını amaçlamıştır. Bu sayede 2030 yılında epideminin son bularak halk sağlığı ve ekonomik yük bakımından getirdiği büyük sorumluluğun ortadan kalkması düşünülmüştür. Batı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkeleri bu hedeflere oldukça yaklaşmış ancak başta Afrika ülkeleri olmak üzere birçok bölgede bu hedeflere ulaşamamıştır. 2020 yılı UNAIDS HIV raporuna göre, tüm HIV pozitif kişilerin sadece %79'unun tanı alabildiği belirtilirken, tanı alanlar içinden antiretroviral tedaviye başlayanların %62 oranında olduğu saptanmış ve tedavi alanların ancak %53'ünde viral baskılanma sağlanabilmiştir (9).

Enfeksiyonun bulaşma yollarına yönelik Dünya genelinde alınan bütün önlemlerin neticesi olarak yeni tespit edilen HIV vaka sayısında düşüş görülmüşse de ülkemizdeki artış halen devam etmektedir. Ülkemizde 1985 yılında bildirilen ilk vakayla birlikte vaka sayısı yıllara yayılarak sürekli artış göstermiştir. T.C. Sağlık Bakanlığının yayınladığı resmi verilere göre; ilk vakanın gösterildiği 1985 yılından 15 Kasım 2021 tarihine kadar doğrulama testi sonucuyla birlikte resmi bildirim yapılan 29.284 HIV pozitif, 2052 AIDS vakası bulunmaktadır (71). Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) tarafından yayınlanan "2020 yılı Avrupa HIV/AIDS Sürveyans Raporu'nda" Orta Avrupa ülkeleri arasında değerlendirilmeye alınan ülkemiz, 100.000'de 3.9 vaka ile 2019 yılı HIV insidansının en yüksek olduğu ülkeler arasında yer almıştır (37). Buna rağmen, ülkemiz halen dünya genelinde HIV enfekte kümülatif vaka sayısı ve prevalansı açısından düşük olan ülkeler arasında yer almaktadır.

Tüm HIV enfekte vakaların %95'i ve daha fazlası gelişmekte olan ülkelerde görülmekteyken, Sahra-altı Afrika'da, Güney ve Güneydoğu Asya'da ise bu oranın %89'u görülmektedir. Eski Sovyetler Birliği Cumhuriyetleri'nin dağılması ile Rusya'da ve Doğu Avrupa ülkeleri'nde HIV enfeksiyonunun çok hızlı bir şekilde

yayıldığı görülmektedir. Dünya nüfusunun beşte birinin yaşadığı Çin'de, intravenöz madde kullananlar arasında HIV pozitiflik oranının kısa sürede artarak %70'lere ulaştığı görülmüştür (10).

2.3.1 Bulaş Yolları

a. Cinsel yolla bulaş: HIV enfeksiyonunun en önemli bulaşma yolu cinsel temas olup korunma önlemi alınmadan yapılan tüm cinsel temaslara bulaşabilmekte ve cinsel birliktelik sayısı arttıkça da bulaş olasılığı o kadar artmaktadır. Vajinal, anal ve oral yollarla yapılan cinsel temaslarda bulaşma riski kendi içinde farklılık gösterir. Mesela anal yolla olan cinsel birliktelikte risk daha fazladır (8, 10, 17, 47, 55, 57). Birden fazla partneri olanlarda, sık partner değiştirenlerde, intravenöz madde kullananlarda, kanama bozuklukları, hemofili veya kronik böbrek hastalığı gibi sık sık kan transfüzyonu gerektiren bireylerle yapılan cinsel birliktelikte bulaş riski daha fazladır.

b. Kan ve kan ürünleri ile bulaş: Kanda virüsün yoğun miktarda bulunması nedeni ile virüsü taşıyan kişilerden alınmış kan ve kan ürünleri ile hastalık bulaşabilmektedir. Anti-HIV testlerinin 1985 yılında kullanıma girmesi ile dünyanın her yerinde kan ve kan ürünlerinin hastaya verilmeden önce HIV yönünden test edilmesi zorunlu hale getirilmiştir. Ülkemizde ise tüm kan ve kan ürünleri 1987 yılından itibaren test edilmeye başlanmıştır. Alınan önlemlerle bulaş riski azalmakla birlikte, hastalıkta görülen 10 ile 12 hafta süren pencere dönemi ve test yapılmasına zaman bulunamayan acil vakalarda kullanılabilme ihtimali olan kan ve kan ürünleri, azda olsa (%0.03) bu yolla geçişin mümkün olabileceğini göstermektedir. İntravenöz madde kullanan bireylerin aynı enjektörü ve benzeri aletleri birbirleriyle paylaşmaları sonucu bulaşın arttığı görülmektedir (8, 10, 47, 55).

c. Anneden bebeğe bulaş: HIV gebelik süresince, doğum sırasında ve bebeğin emzirilmesiyle %20-30 sıklıkta bebeğe geçebilmektedir. Bu oran HIV pozitif anneye antiretroviral ilaç başlanması, doğumdan sonra ise bebeğe antiretroviral ilacın verilmesi ve doğumun sezaryen yöntemiyle olması ile %8-10'lara düşürülebilmektedir (8, 10, 55).

2.4 Klinik

2.4.1 Enfeksiyonun Seyri

HIV enfeksiyonunun doğal seyri altı evreye ayrılmaktadır.

1. Virüsün bulaşması: Enfeksiyonun erken döneminde enfekte kişinin kanında virüs bulunmasına rağmen antikor, antijen ve viral RNA saptanamamaktadır. Bu dönem 'pencere dönemi' (eklips) olarak adlandırılmaktadır. Konağın genetik özellikleri ve immün yanıtına, virüsün genetik yapısına, tespit edilen antijene/antikora bağlı olarak pencere döneminin süresi değişiklik göstermektedir. Pencere döneminin sona erdiği; bulaştan yaklaşık 10 gün sonra viral RNA'nın, bundan 4-10 gün sonra ise ELISA yöntemi ile p24 antijeninin tespiti ile anlaşılır. (8, 17, 47, 55).

2. Primer HIV enfeksiyonu (Akut HIV enfeksiyonu): Akut retroviral sendrom olarak da adlandırılan bu tablo etkenin vücuda alınmasından sonraki ilk 1-6 hafta içerisinde gelişir. Klinik bulgular bu dönemde nonspesifiktir. Sıklık sırasına göre ateş (%96), lenfadenopati (%74), farenjit (%70), deri döküntüleri (%70), kas veya eklem ağrısı (%54), ishal (%32), baş ağrısı (%32), bulantı ve kusma (%27), karaciğer ve dalak büyümesi (%14) görülebilir. Akut dönemde görülebilen bu belirti ve bulgular 2-4 hafta gibi bir süreç sonrası kendiliğinden kaybolur. Akut enfeksiyon dönemi itibariyle kişi artık bulaştırıcıdır. Bu dönemde HIV spesifik antikorlar saptanamayacağı için plazmadaki viral RNA'yı tespit etmek amacıyla PCR ile HIV RNA testi ya da p24 antijen ELISA testi yapılmalıdır (8, 48). Akut enfeksiyonda p24 antijen testinin duyarlılığı %79-89, özgüllüğü %99-100 arasındadır (8, 12, 17, 47).

3. Serokonversiyon: Serokonversiyon dönemi denen bu süreçte virüsün alınmasını takiben, %95 vakada yaklaşık 6-12 hafta gibi bir süre içerisinde HIV'e karşı antikorlar gelişir. HIV'e karşı antikorlar tipik olarak enfeksiyondan en erken 10-14 gün sonra ortaya çıkar (11, 39). Enfekte birey bu dönemde de bulaştırıcıdır. Süreçte gelişen bu antikorların hastalığın ilerlemesini engellemeye yönelik etkileri olmamakla birlikte Anti-HIV pozitifliği hastalığın teşhisi açısından önemlidir. Gag proteinlerine (p17, p24, p55) karşı antikorlar enfeksiyonun ilk aşamasında ortaya çıkmakta, enfeksiyon ilerledikçe zarf glikoproteinlerine (gp160 veya gp120/gp41) karşı antikorlar gelişmektedir (8, 10, 12, 17, 47).

4. Asemptomatik Dönem: Virüsün alınmasından sonra klinik olarak enfeksiyon tablosunun ortaya çıkmasına kadar olan (genellikle 5-8 yıl) döneme asemptomatik dönem denir. Bu sürenin kısa sürdüğü olgular olduğu gibi Long-term survivors (LTS) olarak adlandırılan, bu sürenin 18 yıla kadar uzadığı gruplar da izlenmektedir. Hasta asemptomatik olmasına rağmen, lenf düğümü hücreleri tarafından büyük miktarda HIV üretilmekte ve lenf düğümlerinde latent olarak da kalmaktadır (8, 10, 47, 56).

5. Erken Semptomatik Dönem: Bu dönem genellikle nedeni tesbit edilemeyen kilo kaybı, ateş, baş ağrısı ve tekrarlayan diyare atakları gibi şikayetlerin başladığı dönemdir. Seboreik dermatit, tekrarlayan vulvovajinal kandidiyazis, oral kandidiyazis, herpes zoster, herpes virüs enfeksiyonları, sinüzit, bronşit, pnömoni, ITP, kaposi sarkomu, pulmoner tüberküloz gibi enfeksiyonlar görülebilir (10, 47).

6. Geç Semptomatik Dönem (AIDS): CD4 hücre sayısı bu dönemde düşer, viral yük artar ve AIDS evresine geçiş izlenir. Hastanın erken dönemde karşılaştığı semptomları devam eder. En sık görülen belirtiler inatçı ateş, yorgunluk, kilo kaybı ve lenfadenopatidir. AIDS, HIV enfeksiyonunun geç aşamasıdır. Bu tablo CD4 hücrelerinin sayısının 200/ μ L'nin altına düşmesi ve fırsatçı enfeksiyonların sıklığında artışla kendini gösterir (8, 47).

2.4.2 Patogenez

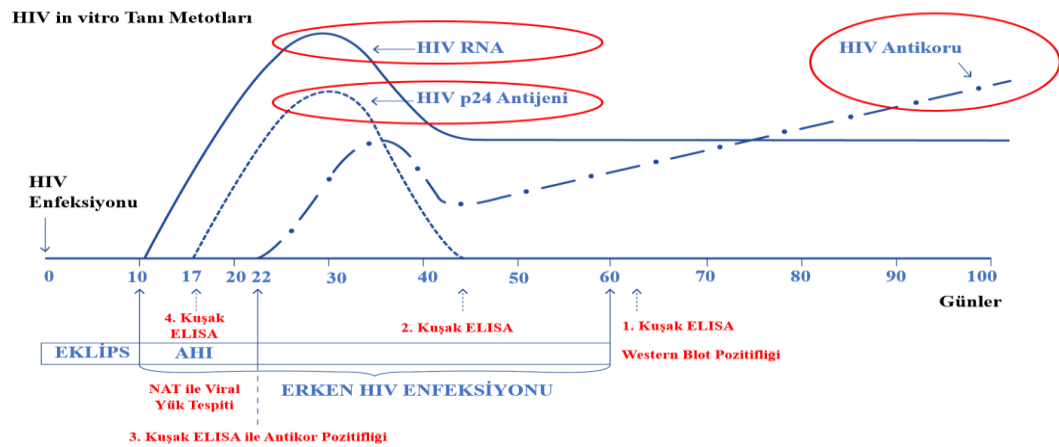
HIV, yardımcı T (Th) hücreleri (özellikle CD4+ T lenfositler), makrofaj ve dendritik hücrelerini enfekte ederek hücresel bağışıklığın baskılanmasına neden olur ve konağı fırsatçı enfeksiyonlara, kaposi sarkomu ve lenfoma gibi kanserlere açık hale getirir. Virüs özellikle gastrointestinal sistemde mukozal bağışıklıkta önemli rolü olan ve nötrofilleri bakteriyel enfeksiyon bölgesine çeken IL-17 üreten Th17 hücrelerini özellikle hedef alır. Böylelikle bireyler, *Escherichia coli* gibi kolonun normal florasındaki bakteriler tarafından kan dolaşımı enfeksiyonlarına yatkın hale gelir. HIV ayrıca beyin monositlerini ve makrofajları enfekte ederek merkezi sinir sistemi bulgularına neden olur. Antiviral ilaçların kullanımı HIV viral yükünü önemli ölçüde azaltabilse de CD4 pozitif hücrelerde ve olgunlaşmamış timositlerde gizli enfeksiyon, devam eden bir virüs kaynağı olarak işlev görür. HIV enfeksiyonuna karşı temel bağışıklık tepkisi, sitotoksik CD8 pozitif lenfositlerden (Tcs) oluşur. Bu hücreler enfeksiyona ilk yanıtı verir ve onu yıllarca kontrol eder.

AIDS klinik tablosu Tcs hücrelerinin başarısızlığıdır. Çok sayıda CD4 Th harabiyeti sonrasında Tcs hücrelerini aktive etmek için gerekli olan IL-2 gibi lenfokinlerin yetersiz olması nedeniyle Tcs hücreleri de etkinliklerini kaybeder. CD4 Th sayısı kritik seviyenin altına indiğinde hücre aracılı immünite kaybolur ve fırsatçı enfeksiyonlara daha açık hale gelerek AIDS gelişimi ile sonuçlanır (8, 33, 55).

2.5 Laboratuvar Tanısı

Son 30 yılda HIV tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük düzeylerine sahip test metodları geliştirilmiştir. Böylelikle enfekte olan bireylerin erken evrede ve kısa sürede saptanarak erken tedavi ile viral yük düzeylerinin baskılanması mümkün olmuştur. HIV-1 ve HIV-2'ye özgü antikorların yanı sıra p24 antijeninin de eş zamanlı olarak saptanmasını sağlayan dördüncü kuşak ELISA testleri olarak adlandırılan 'HIV-1/2 antijen-antikor immunoassay' kullanımı ile tanısal duyarlılık daha da artarak pencere dönemi kısalmıştır.

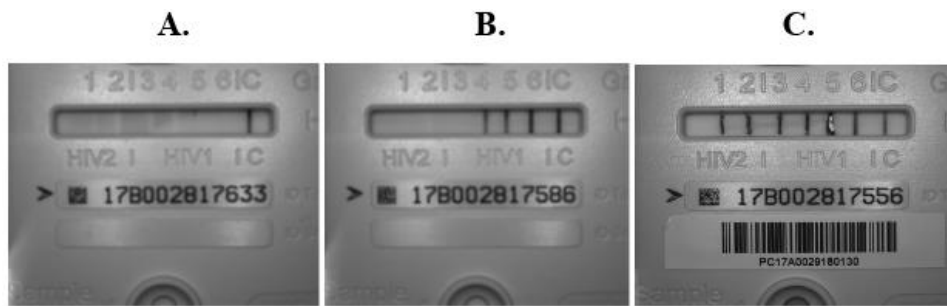
HIV enfeksiyonunun tanısında iki aşamalı yaklaşım önerilmektedir. Öncelikle bir tarama testinin yapılması ve bununla birlikte reaktif bulunan örneklerde doğrulama testinin yapılması gereklidir. Ancak doğrulama testinin pozitif olması sonucu HIV enfeksiyonunun varlığı kanıtlanmış olur (10, 11, 13, 16, 17, 39, 43, 55, 56). HIV tanısı antikorların serolojik testlerle tanımlanması ve viral nükleik asitin saptanması temeline dayanmaktadır. Tanıda kullanılacak testlerin seçimi enfeksiyonun evresine göre değişmektedir (Şekil 2.5.) (73).



Şekil 2.5. HIV Enfeksiyonu Evrelerine Göre in vitro Tanı Metodlarının Kullanımı

AHI: Akut HIV enfeksiyonu, NAT: Nükleik asit amplifikasyon testi.

Dördüncü kuşak ELISA testlerinin diğer test kitlerine göre duyarlılığı daha yüksektir. Erken evrede yaklaşık 20-25. günde enfekte bireyleri saptayabilmektedir (13, 47). HIV taramasında ELISA testleri güvenilir ve hızlı olmakla birlikte, yüksek viremi sebebi ile bulaştırıcılığın fazla olduğu ve aktif replikasyonun izlendiği pencere döneminde negatif sonuç olarak karşımıza çıkabilir. ELISA kitlerinin özgüllükleri ve duyarlılıklarının yüksek olmasına rağmen test yapılan popülasyonun enfeksiyon prevalansına bağlı olarak, testin pozitif prediktif değeri değişiklik gösterebileceğinden reaktif test sonuçlarının özgüllüğünün daha yüksek testlerle değerlendirilmesi gerekmektedir (47). Ticari HIV, ELISA test kitlerinin duyarlılıkları %98.1-100, özgüllükleri ise düşük prevalanslı popülasyonlarda %99.6-100 arasında değişmektedir. HIV enfeksiyonunun doğrulanması amacıyla HIV-1/2'nin birbirinden ayırt edilebilmesini sağlayan HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testi (Genius HIV-1/2 Supplemental Assay (Bio-Rad Laboratories, Redmond, WA) kullanılmaktadır (13, 16, 17, 43, 42) (Fotoğraf 2.1.) (74). Bu test kullanıma girmeden önce doğrulama amacı ile kullanılan LIA ve WB gibi antikor tespit yöntemlerinin ve HIV-1/2 antikor ayırt edici hızlı doğrulama testinin en önemli dezavantajı erken dönemde pozitiflik saptanamamasıdır. Bu nedenle antikor gelişiminin izlenemediği erken dönemde tanı için p24 antijeninin tespit edilmesi, nükleik asit testleri ile HIV RNA veya HIV DNA varlığının gösterilmesi gerekmektedir (8, 11, 17, 39, 42, 43, 48, 55, 56).



Fotoğraf 2.1. HIV-1/2 Antikör Ayırt Edici Hızlı Doğrulama Test Kiti Görünümü

A. Negatif test sonucu, B. HIV-1 Pozitif test sonucu, C. HIV-1 ve 2 Pozitif test sonucu

Bant 1: gp36 (HIV-2, zarf peptidi), Bant 2: gp140 (HIV-2, zarf peptidi), Bant 3: p31 (HIV-1, polimeraz peptidi), Bant 4: gp160 (HIV-1, zarf rekombinant proteini), Bant 5: p24 (HIV-1, core rekombinant proteini), Bant 6: gp41 (Grup M ve O, HIV-1, zarf peptidi), CTRL bandı: Protein A.

Antikor yanıtının yetersiz olduğu akut HIV enfeksiyonunun tanısında, maternal antikorlar nedeniyle tanıda antikor testlerinin kullanılmadığı 18 aydan küçük bebeklerde moleküler yöntemler kullanılırken, bu yöntemler tanımlanmış HIV enfeksiyonunda ise prognoz ve tedavinin takibinde de kullanılmaktadır (8, 17, 43, 55).

2.6 Tedavi

HIV enfeksiyonunda tedavinin hedefleri; immunolojik fonksiyonların onarılması ve korunması, uzun vadede güçlü bir viral baskılama sağlanması, enfeksiyon sonucu morbiditenin azaltılması, bireyin yaşam kalitesinin ve süresinin artırılması ve HIV'in başka bireylere bulaşının önlenmesidir. Mevcut tedavi rejimleri ile henüz tam olarak kür sağlanamamıştır. Tedaviye başladıktan sonra dört-sekiz hafta içinde viral yükte en az 1 log azalma olduğu görülmesi viral baskılanmayı göstermektedir. Günümüzde asemptomatik veya semptomatik tüm HIV ile enfekte kişilere, HIV pozitifliği saptanın saptanmaz CD4 sayısından bağımsız olarak ART başlanması önerilmektedir. İlk antiretroviral ilaç olan Azidotimidin (AZT)'nin 1985 yılında kullanıma girmesinden iki yıl sonra direnç görülmesi üzerine çeşitli gruplardan ilaçlar birlikte kullanılarak HAART uygulanmaya başlanmıştır. Böylelikle AIDS ile ilişkili mortalitede %80'in üzerinde azalma izlenmiştir (17, 18, 19, 20, 22, 23, 45, 46).

Tedavi almayan HIV-1 enfekte kişilerde günde 104-105 arasında nokta mutasyonu geliştiği bildirilmektedir (22). Bu nedenle tedavide genetik bariyeri yüksek ilaç kullanımı büyük önem taşımaktadır. Çoğu HAART rejimi üç ilaçtan oluşmaktadır: İki Nükleozid reverse transkriptaz inhibitörü (NRTI) + bir Proteaz inhibitörü (PI)/ Non-nükleozid reverse transkriptaz inhibitörü (NNRTI)/ İntegraz inhibitörleri (INSTI) (45, 46, 54). Günümüzde HIV-1 enfeksiyonu tedavisinde altı farklı grup ilaç kullanılmaktadır (17, 20, 8, 56).

1. Proteaz inhibitörleri (PI): Sakinavir, İndinavir, Lopinavir-Ritonavir, Atazanavir, Tipranavir, Darunavir.

Proteaz inhibitörleri, viral proteaz enzimini bloke eder. Öncü proteinlerin bölünmesini ve virionların olgunlaşmasını gag ve gag/pol'ü engeller. Proteaz inhibitörlerinin varlığında üretilen virüs partikülleri çoğunlukla bulaşıcı değildir.

2.Nükleozid reverse transkriptaz inhibitörleri (NRTI): Abakavir, Emtrisitabin, Zidovudin, Tenofovir disoproksil, Didanozin. Lamivudin, Tenofovir aleanamid, Stavudin.

Nükleozid reverse transkriptaz inhibitörleri (NRTI) reverse transkripsiyonu inhibe eden nükleozid analoglarıdır. NRTI'lar zincir sonlandırıcıdır (14).

3.Non-nükleozid reverse transkriptaz inhibitörleri (NNRTI): Nevirapin, Efavirenz, Etravirin, Rilpivirin

Non-nükleozid reverse transkriptaz inhibitörleri (NNRTI), enzimin bir allosterik bölgesine bağlanarak reverse transkriptazı inhibe eder (14). HIV-2 doğal olarak NNRTI'lara dirençlidir (15).

4.İntegraz inhibitörleri (INSTI): Raltegravir, Elvitegravir-kobisistat, Dolutegravir, Bictegravir, Cabotegravir.

İntegraz inhibitörleri viral DNA'nın enfekte olmuş hücrenin DNA'sına entegrasyonundan sorumlu olan integras enzimini inhibe eder.

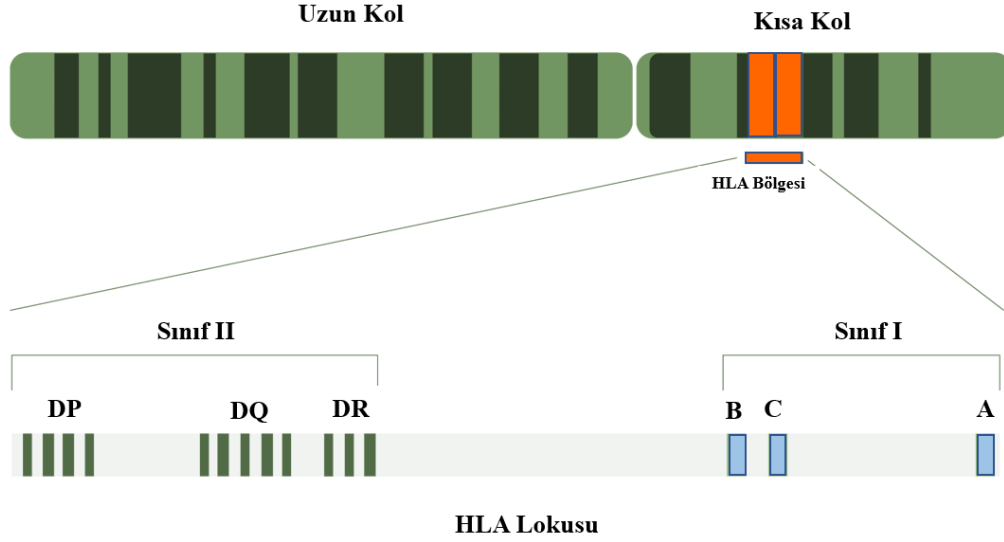
5.Füzyon (Giriş) inhibitörleri: Enfuvirtid, Maravirok

Füzyon inhibitörleri; HIV-1'in bağlanmasına, füzyonuna ve konak hücreye girişini engeller. Maravirok, insan Th hücrelerinde bulunan bir ortak reseptör olan CCR5'i hedefler. Nadiren, CCR5 delta geninde mutasyon görülebilir ve bu mutasyon nedeniyle CCR5 ko-reseptörünün işlevsel özelliği bulunmaz ve bu bireylerde hastalık yavaş ilerler (12).

2.7 HLA-B Genotipleri ile Abakavir Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu İlişkisi

2.7.1 İnsan Lökosit Antijenleri (HLA)

İnsanda 6. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş olan “Human Leukocyte Antigen” HLA bölgesi olarak adlandırılır. HLA'lar alloantijenlerdir, genetik farklılıkların bir sonucu olarak bireyden bireye değişmektedir. Tek yumurta ikizleri dışında tüm lokusları tamamen identik olan HLA uyumu gösteren iki birey olma ihtimali çok düşüktür. Alıcının bağışıklık sistemi nakledilen dokuyu yabancı olarak tanır ve bu dokuyu yok ederek nakil reddine yol açmaktadır (49) (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. HLA Lokusunun Kromozom Üzerinde Şematize Görüntüsü

Major Doku Uyum Kompleksi (MHC), bağışıklık sisteminin kendinden olan/olmayanı ayırt edebilmesi için gerekli olan “doku antijenleri”ni kodlayan gen bölgesidir. Kodlanan proteinlerin özelliklerine göre MHC; Sınıf I, II, III olmak üzere alt bölgelerine ayrılır. Sınıf I bölgesi, HLA -A, -B, -C olarak da tanınan klasik transplantasyon antijenlerini ve HLA -E, -F, -G gibi klasik olmayan Sınıf I antijenleri kodlayan gen lokuslarını, HLA -H, -J, -K, -L, -X gibi psödogenleri ve gen segmentlerini içermektedir. Sınıf II bölgesi ise sentromere yakın yerleşmiş olup; HLA -DRA, -DRB, -DQA, -DQB, -DPA, -DPB, -DNA, -DMA, -DOB lokusları yanı sıra çeşitli psödogenler, LMP1, LMP2, TAP1, TAP2 gibi antijen işlenmesinde rol alan genler bu bölgede yer almaktadır. HLA DRB ile HLA B bölgeleri arasında Sınıf III genleri bulunur ve C4B, C4A, Bleferidin, C2, HSP-70, TNF- α , TNF- β bu bölgede kodlanan bazı genlerin ürünüdür.

2.7.2 HLA Tiplendirme Metotları

HLA-B allellerinin tanımlanması için genotiplendirme testleri kullanılmaktadır. Abakavir tedavisi öncesinde sadece HLA-B57:01 için spesifik testlerin uygulanması yeterli olup, daha geniş kapsamlı HLA genotiplendirme testlerinin uygulanmasının Abakavir tedavisi için ek klinik bilgi sağlamadığı belirlenmiştir (49). Birçok farmakogenetik ilişkilerin aksine HLA-B allel durumunun Abakavir'in farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerine etkisi

bulunmamakta sadece aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişimine neden olabilmektedir (49).

a. Seroloji: Lenfosit mikrositotoksite testi olarak da adlandırılan metottur ve 1960'lerden beri HLA allel tiplendirmesinde kullanılmaktadır. Ancak yerini moleküler yöntemlere bırakmıştır.

b. Sekans (allel) spesifik primerle PCR ("Sequence Specific Priming", SSP): Kullanılan primerler allele spesifiktir. Birden fazla HLA bölgesi araştırılacak ise çok sayıda test yapmak gerekliliği yöntemin dezavantajıdır. Gerekli durumlarda elde edilen PCR ürünü sekans analizine alınabilmektedir (50).

c. Single nucleotide polymorphism (SNP): HLA-B lokusunun 100 kb uzağında HLA kompleks P5 genine (HCP5) yakın konumda bulunan SNP rs2395029 ile HLA-B57:01'nin birlikte kalıtsal olduğu aktarıldığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda duyarlılık %100 olmakla birlikte bazı nadir izlenen durumlarda (%6'sında) rs2395029 varyantı olmasına rağmen HLA-B57:01'nin bulunmadığı izlenmemiştir ve pozitif prediktif değer yaklaşık %94 olduğu belirlenmiştir (50).

d. Sekans spesifik oligonükleotidlerle hibridizasyon ("Sequence Specific Oligonucleotide Hybridisation", SSOP): HLA lokusu PCR ile çoğaltıldıktan sonra elde edilen DNA ürünü ile allel spesifik oligonükleotidlerin katı bir ortam üzerinde (ör: naylon bir membran, kuyucuklar ya da boncuklar) bağlanması hedeflenir. Reaksiyonda kullanılan oligonükleotidler işaretlidir ve ortama eklenen reaktifler ile renkli bir ürün oluşur. Oligonükleotid prob lar DNA'daki allele özgü ise membran üzerinde bu prob lar ve çoğalmış DNA arasında hibridleşme olur. Son yıllarda aynı reaksiyon tüpünde bulunan 100 farklı renkte floresan veren boncuğun herbirine farklı prob lar bağlanarak floresan ölçümüne dayalı tiplendirme yapılabilmektedir. Bu teknikle aynı anda çok sayıda örnek çalışılabilir.

e. Sekans bazlı tiplendirme ("Sequence Based Typing", SBT): Bireyin taşıdığı HLA-B alleli lokusa ya da allel sekansına özgü primerlerin kullanıldığı PCR ile çoğaltılır ve elde edilen ürünün nükleotid dizileri sekans analizine alınarak analiz edilir. Sekans dizilimi bilinen HLA-B allelleri açısından incelenerek allel adı belirlenir. PCR-SSP ve SSOP yöntemlerinden farklı olarak burada sadece bilinen bir alleli aramak söz konusu değildir. Bu metot ile yüksek çözünürlüklü genotiplendirme verisi ve en güvenilir sonuç elde edilir. Ancak metot en çok zaman alıcı ve en pahalısıdır (50).

f. Flow sitometri: HLA-B57:01 ile diğerk risk taşımayan B57 ve B58 serotiplerini ayırt edebilen ve sekans bazlı tiplendirme ile uyumlu sonuçlar veren monoklonal antikolar üretilmiştir. Bu metot ile sadece tip ayrımı yapılmamaktadır, ayrıca HLA-B57:01 taşımayan bireylerin kolaylıkla tanımlanmasını sağlar, ek olarak sekansa gerek duyulmamaktadır (50).

g. Deri testi: Klinik olarak tanımlanmış aşırı duyarlılık reaksiyonu immunolojik olarak doğrulamak amacıyla yapılır (49). Birçok değışen konsantrasyonda Abakavir emdirilmiş ped, kişinin sırt bölgesine yerleştirilir ve inflamatuvar reaksiyon varlığı değerlendirilir. Testin duyarlılığının düşük olduğu tespit edilmesi üzerine rutinde kullanılmamaktadır (50).

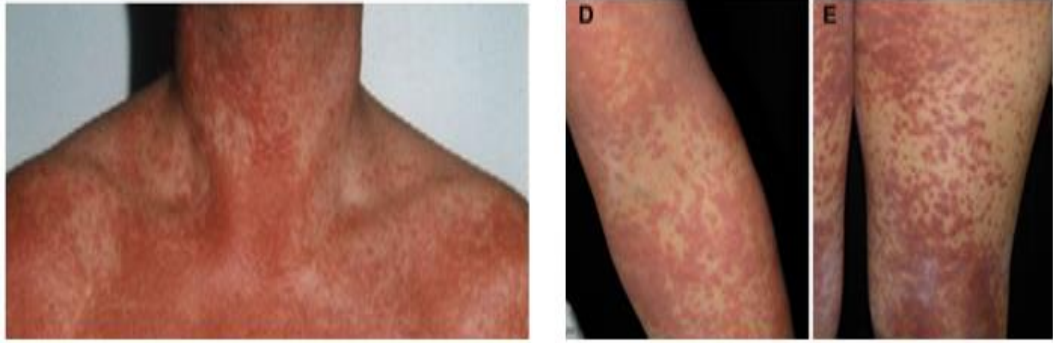
2.7.3 Abakavir Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Abakavir, diğerk antiretroviral ajanlarla kombinasyon halinde kullanılabilen, ilaç etkileşimi az olan ve uzun vadede düşük toksisite profiline sahip antiretroviral ajandır. Reverse transkriptaz aktivitesini inhibe ederek viral RNA genomunun DNA'ya çevrilmesine engel olur.

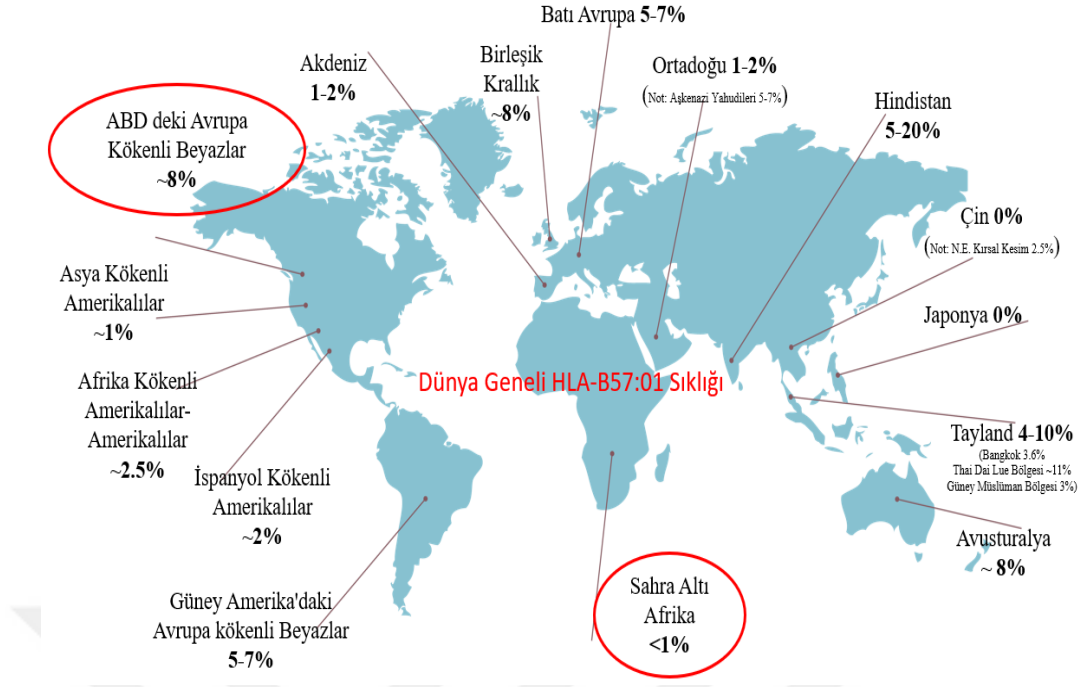
Abakavir'in tedavide kullanımını sınırlayan en önemli yan etkisi, tedavinin ilk altı haftasında hastaların %5-8'ini etkileyen immünolojik olarak aracılık edilen bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Abakavir'e karşı aşırı duyarlılık reaksiyonları ile HLA-B57:01 arasındaki güçlü ilişki 2002 yılında belirlenmiştir (36, 38, 49, 54). Bu nedenle, çoğu tedavi kılavuzu, Abakavir'e başlayan hastaların bu allel varlığı açısından test edilmesini ve pozitif olanların Abakavir almamasını önermiştir. Semptomlar spesifik değildir ve diğerk ilaç reaksiyonları veya inflamatuvar hastalıktan ayırt etmek zor olabilmektedir. Aşırı duyarlılık reaksiyonunun semptomları giderek daha şiddetli hale gelen ateş, döküntü, yapısal semptomlar, gastrointestinal sistem semptomları, yorgunluk, mide bulantısı, kusma, ishal veya karın ağrısı gibi gastrointestinal semptomlar, farenjit, nefes darlığı veya öksürük gibi solunum semptomlarıdır. Bu durumda Abakavir'in hemen kesilmesi zorunludur ve böylelikle semptomlar hızla tersine dönmektedir. Abakavir tedavisine tekrar başlanması daha ciddi, hızlı ve olası hayati reaksiyonları tetikleyebilecek durumlara neden olabilmektedir. Aşırı duyarlılık reaksiyonu erkeklerde, ileri evre HIV enfeksiyonunda daha nadir izlenmektedir (49, 51, 52, 53, 54).

HLA-B57:01 testinin yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmasından bu yana, Abakavir alan kişilerde aşırı duyarlılık reaksiyonlarının insidansı önemli ölçüde azalmıştır. (38, 53). HLA-B57:01 allel prevalansı ırk, etnik köken ve coğrafik bölgelere göre değişmektedir (49, 53). Prevalans Afrika ve Asyalılarda en düşüktür. Bunun yanı sıra bazı Afrika toplumlarında ve Japon toplumunda bulunmamaktadır. Avrupalı popülasyonda %6-7 oranlarında olan prevalans Güneybatı Asyalılarda en yüksektir ve popülasyonun %20'si taşıyıcıdır (49, 50, 51, 52) (Şekil 2.7.) (72).

İmmunolojik olarak doğrulanmış hipersensitivite reaksiyonunda HLA-B57:01 allel varlığının pozitif prediktif değeri yaklaşık %50'dir. Bu durum bazı allel pozitif kişilerde aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişmeyebileceği anlamına gelmektedir. Negatif prediktif değeri ise %99'un üzerindedir ve immunolojik olarak doğrulanmış aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişim riski olanları tanımlamada oldukça etkilidir. Allel negatif olarak saptanan hastaların %3'ünde aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişme riski olduğu düşünüldüğünde Abakavir ile tedavi sürecinde aşırı duyarlılık reaksiyonları gelişimi açısından belirti ve bulguların takibi ve hastaların konu hakkında bilgilendirilmesi büyük önem taşımaktadır (49, 51) (Fotoğraf 2.2.).



Fotoğraf 2.2. Abakavir Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu



Şekil 2.7. Dünya Genelinde HLA-B57:01 Sıklığı

HLA-B57:01 Abakavir ile ilişkili hipersensitivite reaksiyonu gelişimi ile ilişkisinin dışında Fluoksasilin ile indüklenen karaciğer toksitesi ile de ilişkili bulunmuştur. Bunun dışında tedavi almadığı halde viral yükün saptanmadığı ve uzun süre asemptomatik evreden AIDS evresine geçişin de izlenmediği “long-term nonprogressor” adı verilen HIV pozitif hasta grubunda da HLA-B57:01 prevalansının yüksek olduğu bildirilmektedir (49).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Bu Çalışma Örneklerinin Seçimi

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 25.05.2021 tarihi ve 2021/136 sayısı ile etik izin alınmıştır. Çalışmaya Ocak-Aralık 2021 tarihleri arasında Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarına HLA-B57:01 testi için gönderilen yeni tanı almış ve tedavi planlanan 235 hastaya ait %3 EDTA solusyonu içeren kan tüpüne alınmış kan örneklerinden izole edilen DNA örnekleri dahil edilmiştir.

Hasta seçiminde lenfosit CD4 sayısı, viral yük, tanı tarihi göz önüne alınmamış olup hastaların kodu, yaşı, cinsiyeti, gönderilen merkez kayıt altına alınmıştır.

3.2 Tam Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için silika-membran bazlı DNA pürfikasyonunu sağlayan QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) kullanılmıştır. DNA izolasyonu üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (40).

- a) 1.5 ml tüpe 20 µl proteinaz K, 200 µl tam kan örneğine ve 200 µl AL buffer eklenmiştir.
- b) 15 sn vorteksledikten sonra 56 °C'de ısı bloğunda 10 dakika bekletilmiştir.
- c) Santrifüj edilip üzerine 200 µl %99 etanol eklenmiştir.
- d) 15 saniye vorteksledikten sonra 6000x g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir.
- e) İçerik spin kolona aktarılmış ve 6000 xg'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- f) Kolon başka tüpe alınmış, 500 µl AW1 eklenmiş ve 6000xg de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- g) Kolon başka tüpe alınmış, 500 µl AW2 eklenmiş ve 20000xg'de 3 dakika santrifüj edilmiştir.
- h) Kolon yeni tüpe alınmış ve 1 dakika santrifüj edilmiştir.

- i) Kolon tekrar yeni tüpe alınmış, 200 µl AE eklenmiş ve 1 dakika bekletildikten sonra 6000 xg'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- j) Kolon atılmış ve tüp içeriğindeki DNA çalışmaya alıncaya kadar - 20 °C'de saklanmıştır.

3.3 PCR Yöntemiyle HLA-B57:01 Allel Saptanması

Test Cascella R ve arkadaşları çalışmasında kullanılan primerlerle ve önerilen reaksiyonda çeşitli modifikasyonlar yapılarak allel spesifik primerlerle semi-nested PCR reaksiyon ile gerçekleştirilmiştir (41). İlk PCR aşamasında HLA-B57 varlığı değerlendirilmiştir. HLA-B57:01 pozitif bulunan örneklerde HLA-B57:01 pozitifliğinin değerlendirilmesi için seminested PCR yapılmıştır.

3.3.1 PCR Testi İçin Kullanılan Primerler:

PCR ile HLA-B57:01 allel tespiti için aşağıdaki tablodaki primer dizileri (Sentebiolab, Turkey) kullanılmıştır. İnternal kontrol olarak LOXL-1 genine spesifik tasarlanan primerler kullanılmıştır (Tablo 3.1.) (41).

Tablo 3.1. Kullanılan Primer Dizileri

Primer adı	Dizilim yönü	Nükleotid dizisi
HLA1F	Forward	5'-GTCTCACATCATCCAGGT-3'
HLA1R	Reverse	5'-CGTCTCCTTCCCGTTCTC-3'
HLA2R	Reverse	5'-ATCCTTGCCGTCGTAGGCCGG-3'
HLA3R	Reverse	5'-ATCCTTGCCGTCGTAGGCAG-3'
INT-F	Forward	5'-GCAGAAGGGCGCATTATAGC-3'
INT-R	Reverse	5'-CATGTGAGTACACTCAGCTTG-3'

3.3.2 Reaksiyon Karışımının Hazırlanması

Bir test için gerekli olan reaksiyon karışımı bileşenleri ve miktarları aşağıdaki tabloya göre hazırlanmıştır (Tablo 3.2.). Her bileşen örnek sayısı ile çarpılarak hazırlanacak miktar belirlenmiştir.

Tablo 3.2. PCR ile HLA-B57 Allel Tespiti için İlk PCR Reaksiyon Karışımının İçeriği

Reaksiyon karışımı	Volüm (µL)
Hot start Taq DNA polimeraz miks	12.5
Primer HLA1F (10 mM)	1.5
Primer HLA 1R (10 mM)	1.5
Primer INT-F	1
Primer INT-R	1
Moleküler grade su	2.5
DNA	5
Total	25

0.2 mL PCR tüpüne 5 µL DNA eklenerek termal döngü cihazında aşağıdaki amplifikasyon döngüsü uygulanmıştır (Tablo 3.3.). HLA-B57 primer dizileri için 262 bp, internal kontrol için 444 bp DNA fragmanı izlenmesi amaçlanmıştır.

Tablo 3.3. Amplifikasyon Döngüsü- İlk PCR Reaksiyonu

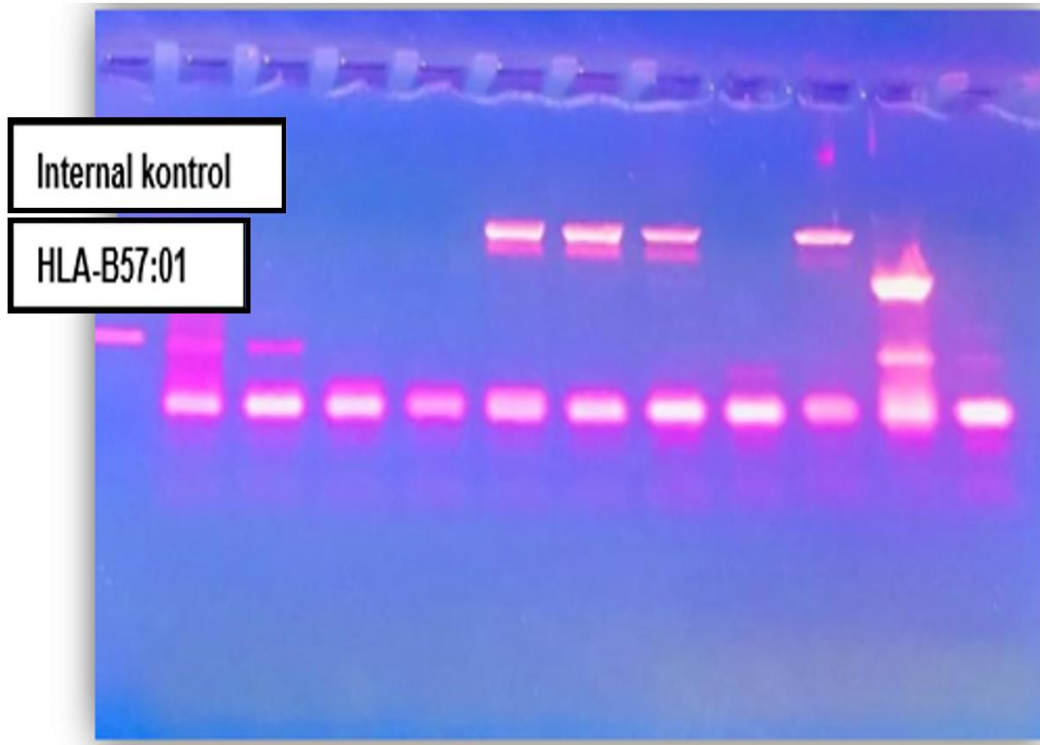
Denaturasyon	98 °C	5 dk	
Denaturasyon	98 °C	10 sn	32 siklus
Bağlanma	60 °C	30 sn	
Uzama	72 °C	30 sn	
Son uzama	72 °C	10 dk	

0.2 mL PCR tüpüne 4 µL DNA eklenerek termal döngü cihazında aşağıdaki amplifikasyon döngüsü uygulanmıştır (Tablo 3.4.).

Tablo 3.4. PCR ile HLA-B57:01 Allel Tespiti için Seminested PCR Reaksiyon Karışımının İçeriği

Reaksiyon karışımı	Volüm (µL)
Hot start Taq DNA polimeraz miks	12.5
Primer HLA1F (10 mM)	1.5
Primer HLA 2R (10 mM)	1.5
Primer HLA 3R (10 mM)	1.5
Primer INT-F	1
Primer INT-R	1
Moleküler grade su	2
DNA	4
Total	25

HLA-B57:01 için 94 bp, internal kontrol için 444 bp DNA fragmanı izlenmesi amaçlanmıştır (Fotoğraf 3.1.).



Fotoğraf 3.1. HLA-B57:01 Pozitif ve Negatif Örneklerin Jel Elektroferez Sonrası Görüntüsü

Denaturasyon	95 °C	5 dk	
Denaturasyon	94 °C	30 sn	30 siklus
Bağlanma	60 °C	1 dk	
Uzama	72 °C	1 dk	
Son uzama	72 °C	10 dk	

3.3.3 DNA'nın Gösterilmesi

DNA örneklerinin izlenebilmesi için EDTA 0.5 M, 10XTBE solusyonları hazırlanmıştır.

EDTA 0.5 M (pH=8.0)	Marka	Miktar
Na ₂ EDTA (Disodium ethylenediaminetetraacetate.2H ₂ O)	(Sigma Chemical, USA)	186.1 gr
Distile su		800 mL
Son hacim		1000 mL

10XTBE(pH=8.0)	Marka	Miktar
Trisma base	(Sigma Chemical, USA)	108 gr
Borik asit	(Sigma Chemical, USA)	55 gr
0.5 M EDTA	(Sigma Chemical, USA)	40 mL

0.5XTBE, 10XTBE'nin 1/20 sulandırılması ile elde edilmiştir. 25 ml 0.5XTBE içine 0.5 gr agar (NuSieve 3:1 Agarose, Lonza) karıştırılarak mikrodalga fırında eritilmiş ve jel sıcaklığı 60 °C'ye gelince %0.01'lik EtBr çözeltisinden 10 mikrolitre eklenerek jel kabına dökülmüştür. Amplifiye edilen PCR ürünleri, DNA marker (Gene Ruler, 100 bp DNA ladder Thermo), pozitif kontrol, negatif kontrol, su kontrol, reaksiyon kontrol 0.5XTBE tamponu içindeki jele yüklenmiştir. 135 V'da 40 dakika elektroforez uygulanmış olup sonuçlar UV transilluminatörde 444, 262 ve 94 bp gen ürünü varlığı açısından değerlendirilmiştir.

3.3.4 Sonuçların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada verilerin analizi SPSS15 (IBM® SPSS® Modeler 15.0) paket programında yapılmıştır. Kategorik karşılaştırmalar için Kikare (Pearson Chi-square) ve Fisher'in Kesin Testi (Fisher's Exact Test) kullanılmıştır. Bu değerlendirmeye beraber $p < 0.05$ alınan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 235 hastadan, 179'u (%86.4) erkek, 28'i (%13.6) kadındı. Hasta örnekleri kodlama ile test edilmek üzere gönderilmesi nedeniyle 28 hastanın cinsiyet bilgisine ulaşılamadı. Hastaların yaş aralığı 18-76 idi (yaş ortalaması 36.86). Hastaların yaş grupları ve cinsiyetlerine göre dağılımları Tablo 4.1.' de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Hastaların Yaş Grupları ve Cinsiyetlerine Göre Dağılımları

Yaş grubu	Hasta sayısı (n)	Erkek		Kadın		Yaş grubuna göre oran
		n	%*	n	%*	%
18-25 yaş	33	27	81.8	6	18.2	15.9
26-35 yaş	80	72	90	8	10	38.6
36-45 yaş	41	38	92.7	3	7.3	19.8
46-55 yaş	31	23	74.2	8	25.8	15
56-65 yaş	14	12	85.7	2	14.3	6.8
66-76 yaş	8	7	87.5	1	12.5	3.9
TOPLAM	207	179	86.5	28	13.5	100

* Satır yüzdesine göre hesaplandı.

Çalışmaya dâhil edilen hastalar yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde; vakalar en sık 26-35 yaş grubunda (%38.6), ikinci sıklıkta 36-45 yaş grubundaydı (%19.8). En düşük sıklık ise 66-76 yaş grubunda (%3.9) izlendi (Tablo 4.1.).

Hastaların test için başvuru merkezlerinin coğrafik değerlendirmesi sonucunda; örneklerin 126'sının (%53.6) İç Anadolu Bölgesi, 64'ünün (%27.2) Karadeniz Bölgesi, 26'sının (%11.1) Akdeniz Bölgesi, 8'inin (%3.4) Güney Doğu Anadolu Bölgesi, 4'ünün (%1.7) Ege Bölgesi, 4'ünün (%1.7) Marmara Bölgesi ve 3'ünün ise (%1.3) Doğu Anadolu Bölgesinde tanı aldığı belirlendi.

Çalışma grubunda HLA-B57:01 allel varlığı yönünden test edilen toplam 235 örneğin 5'inde (%2.12) allel pozitifliği saptandı. Pozitif saptanan 5 hastanın 3'ünün 18-25 yaş grubunda, 2'sinin ise 26-35 yaş grubunda olduğu belirlendi. Diğer yaş gruplarında ise HLA-B57:01 allel pozitifliği izlenmedi. Hastaların yaş gruplarına göre dağılımları Tablo 4.2.'de gösterilmektedir.

Tablo 4.2. HLA-B57:01 Allel Pozitifliğinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş grubu	HLA-B57:01		Toplam
	Negatif %*	Pozitif %*	
18-25	39 (92.9)	3 (7.14)	42
26-35	87 (97.8)	2 (2.2)	89
>35	104 (100)	0	104
Toplam	230 (97.88)	5 (2.12)	235

* Satır yüzdesine göre hesaplandı.

Çalışma grubu 35 yaşın altındaki ve üzerindeki hasta grubu olarak sınıflandırılarak değerlendirildiğinde; 35 yaş ve altındaki hasta grubunun 5'inde (%3.8) HLA-B57:01 pozitifliği belirlendi ancak 35 yaşın üzerinde pozitiflik saptanmadı. HLA-B57:01 pozitifliği açısından 35 yaşın altında olmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.044$, $OR=4.056$).

HLA-B57:01 pozitifliği ile cinsiyet arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; allel pozitif hastaların tümünün erkek olduğu, tüm erkek hastaların %2.8'inin HLA-B57:01 alleli taşıdığı belirlenmiştir ($p=0.371$) (Tablo 4.3.).

Tablo 4.3. HLA-B57:01 Allel Pozitifliğinin Cinsiyete Göre Dağılımı

Cinsiyet	HLA-B57:01		Toplam
	Negatif %*	Pozitif %*	
Kadın	28 (100)	0	28
Erkek	174 (97.2)	5 (2.8)	179
Toplam**	202	5	207

* Satır yüzdesine göre hesaplandı.

** Cinsiyeti bilinmeyen hastalar değerlendirme dışı bırakılmıştır.

HLA-B57:01 allel prevalansının coğrafik dağılımı değerlendirildiğinde; en sık allel pozitifliği Karadeniz Bölgesinde izlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde iki hastanın Karadeniz Bölgesinden, birer hastanın Ege Bölgesi, İç Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinden olduğu tespit edilmiştir. Bölgelere göre allel prevalansı değerlendirildiğinde Karadeniz Bölgesinde allel pozitifliğinin diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



5. TARTIŞMA

Enfeksiyonun bulaşma yollarına yönelik olarak Dünya genelinde alınan önlemlerin sonucu yeni tespit edilen HIV vaka sayısının düşme eğiliminde olmasına rağmen, ülkemizdeki vakaların artışı önemli ölçüde devam etmektedir. Ancak 82 milyon nüfusu ile enfeksiyonun 2021 yılı insidansının %0.0025 olduğu dikkate alınır, ülkemiz HIV enfekte kümülatif vaka sayısı ve prevalansı yönünden halen düşük olan ülkeler arasında yer almaktadır. Ancak, Orta Asya ve Doğu Avrupa'da yıllık yeni enfeksiyon sayısı hızlı bir artış göstermektedir. (21).

HIV enfeksiyonunda tedavi hedefleri; İmmunolojik fonksiyonların onarılması ve korunması, enfeksiyona bağlı morbiditenin azaltılması, uzun vadeli güçlü bir viral baskılama sağlanması, bireyin yaşam kalitesi ve süresinin artırılması ve HIV'in başka bireylere bulaşının önüne geçilmesidir. Günümüzde ulusal ve uluslararası rehberler doğrultusunda tüm HIV ile enfekte bireylere, HIV pozitifliği saptandığı anda CD4 sayısından bağımsız olarak ART başlanması önerilmektedir. Tedavide viral supresyonu sağlayan ilaçlar kullanılmakla birlikte enfeksiyonda tamamen iyileşme henüz sağlanamamıştır. Enfekte kişilerde antiviral ilaç direnci gelişimini engellemek için HAART verilmektedir (17, 18, 19, 20, 22, 23, 45, 46).

Tedavide sıklıkla iki NRTI ile birlikte bir NNRTI, PI ya da INSTI grubundan birisi kullanılmaktadır (45, 46, 54). Tüm bu gruplar arasında kullanım öncesinde ek test yapılması gereken tek ilaç Abakavirdir. Viral reverse transkriptaz aktivitesini inhibe ederek viral RNA genomunun DNA'ya çevrilmesine engel olarak etkili olan Abakavir, ilaç etkileşimi az olan ve uzun vadede düşük toksisite profiline sahip bir antiretroviral ajandır. Bu ilacın tedavide kullanımını sınırlayan en önemli yan etkisi, tedavinin ilk altı haftasında hastaların %5-8'ini etkileyen bazı durumlarda hayatı tehdit edecek kadar ciddi semptomlar oluşturabilen aşırı duyarlılık reaksiyonudur (49, 59). Bu nedenle, Abakavir tedavisi öncesinde hastaların bu allel varlığı açısından test edilmesi önerilmektedir.

2000'li yılların başında HLA-B57:01 alleli varlığı ile Abakavir ile aşırı duyarlılık reaksiyonunun yakın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ancak immunolojik olarak doğrulanmış hipersensitivite reaksiyonunda HLA-B57:01 varlığının pozitif prediktif değerinin %50'nin altında, negatif prediktif değerinin ise %99'un üzerinde

olduğu bildirilmektedir. Yurtdışında yapılan PREDICT-1 çalışmasının sonucu olarak, Mallal ve arkadaşları HLA-B 57:01 allel pozitif prediktif değerini %47.9, negatif prediktif değerini %100 olarak belirlemiştir (60). ABD’de yapılan SHAPE çalışmasında ise testin pozitif ve prediktif değerleri sırasıyla; %50 ve %100 olarak belirlenmiştir (61). Yine immunolojik olarak doğrulanmış vakaların incelendiği İspanya’da gerçekleştirilen çalışmada pozitif prediktif değer %63, negatif prediktif değer %92 olarak tespit edilmiştir (62). Bu durum bazı allel pozitif kişilerde aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişmeyebileceği anlamına gelmektedir. Allel negatif olarak saptanan hastaların %3’ünde aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişme riski olduğu düşünüldüğünde, Abakavir ile tedavi sürecinde aşırı duyarlılık reaksiyonları gelişimi açısından belirti ve bulguların takibi ve hastaların konu hakkında bilgilendirilmesinin büyük önem taşıdığı düşünülmektedir (49, 51).

HLA-B57:01 allel prevalansı coğrafik bölgelere, ırka, etnik kökene hatta yaş ve cinsiyete göre değişiklik gösterebilmektedir (36, 49, 51, 53). Prevalans özellikle Avrupalılarda beyaz ırkta daha yüksek olup %5-8 olarak bildirilmektedir (58, 60, 61, 63, 64, 65). Afrika ve Asyalılarda ise prevalans düşüktür. Orkin ve arkadaşları (67), 10 Avrupa ülkesinden 9720 HIV ile enfekte hastayı kapsayan epidemiyolojik çalışmada, HLA-B57:01 prevalansını %4.98 olarak belirlemiştirler. Bu çalışmada en yüksek prevalans %7.75 ile İsviçre’de gösterilirken, %1.53 ile en düşük Finlandiya’da gösterilmiştir. Ülkelere göre prevalans aralığı %1.53-7.75 olarak bildirilmiştir.

HLA-B57:01 allel pozitifliği; Kuzey Amerika’da yapılan geniş kapsamlı çalışmada %5.7, Kanada’da yapılan çalışmada ise %4.1 olarak bildirilmiştir (69, 70). ABD’de yaşayan popülasyonların değerlendirildiği Cao ve arkadaşlarının çalışmasında; HLA-B57:01 allel pozitifliği Avrupa kökenlilerde %4.15, Afrika kökenli Amerikalılarda %2.3, Asyalılarda ise %0.97 olarak belirlenmiştir (66). Çalışmamızda; HLA-B57:01 allel pozitifliği ile cinsiyet arasındaki ilişki değerlendirildiğinde allel pozitif hastaların tümünün erkek olduğu, tüm erkek hastaların ise %2.8’inin HLA-B57:01 allel taşıdığı belirlenmiştir ($p=0.371$). Kuzey Amerika’da yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar alınmış ve allel sıklığının erkeklerde daha yüksek olduğu izlenmiştir (69).

Tüm bunların dışında Abakavir'e karşı gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonu ile HLA-B57:01 allel arasındaki ilişkiyi farklı bir metod uygulayarak da değerlendiren Mallal ve arkadaşlarının geniş bir çalışma grubunda yaptıkları çok yönlü çalışmada (60); Abakavir alan hastalarda klinik olarak aşırı duyarlılık reaksiyonu görülen bir kısım hasta grubuna deri (epikütan) yama testi uygulamış ve yama testi sonucu değerlendirmeye alınabilecek 66 hastanın 61'inde deri yama testi pozitif olan 23 hastanın tamamında HLA-B57:01 alleli pozitifliği saptanmışken, deri yama testi negatif olan 38 hastanın 32'sinde HLA-B57:01 alleli negatif bulmuş, geri kalan 6 hastada ise HLA-B tespit etmişlerdir. Bununla beraber Kuzey Amerika'da yapılan geniş bir çalışmada (69); HLA-B57:01 allel negatif hastaların %1'inden azında Abakavir'e karşı aşırı duyarlılık reaksiyonu benzeri semptomlar saptanan bireylerde, deri yama testi sonucu negatif saptandığı görülmüştür. Sonuç olarak çalışmacılar bu vakalar için aşırı duyarlılık reaksiyonunu tamamen dışlamanın doğru bulmadıklarını, her ne kadar deri yama testi ve HLA-B57:01 allel varlığı negatif sonuç olarak saptansada hastalarda görülen aşırı duyarlılık reaksiyonuna benzer semptomların başka bir hastalık sürecinden veya farklı bir ajandan kaynaklanmış olabileceğini göz ardı etmemeleri gerektiğini savunmuşlardır. (69).

Yapılan bazı çalışmalarda HLA-B-57:01 alleli varlığının HIV enfeksiyonunun enfekte bireyde ilerlemesinde tersine bir etki göstererek negatif etkisi olduğu belirtilmiştir (54). Polonya'da yapılan bir çalışmada (68), HLA-C-35C ve HLA-B 57:01 alelleri olan HIV pozitif hastaların tedaviye başlamadan önce daha yüksek miktarda CD4 Th lenfosit sayısına ve daha düşük seviyede viral yüke sahip olduğu belirtilmiştir.

HLA-B57:01 allel ile HIV enfekte hastaların CD4 Th lenfosit sayısı arasındaki ilişki ve deri yama testine yönelik bir uygulama çalışmamızda ele alınmamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde Abakavir kullanımını için en büyük kontrendikasyon olan aşırı duyarlılık reaksiyonu ile ilişkili bulunan HLA-B57:01 allel sıklığı arasında ilişkinin araştırıldığı çalışmalar çok kısıtlıdır ve bu çalışmanın dışında henüz çok merkezli kapsamlı bir araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışma ülkemizde birden fazla merkezde takip altına alınan yeni HIV tanısı almış vakaların HLA-B57:01 allel prevalansı yönünden birkaç farklı il çalışması haricinde değerlendirildiği en kapsamlı yapılan ilk çalışma özelliğindedir.

Bu çalışmada yeni HIV tanısı almış hasta grubunda HLA-B57:01 allel sıklığının allel spesifik PCR ile taranması amaçlanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 235 hasta örneğinden 5'inde (%2.1) allel pozitifliği tespit edildi. Pozitif saptanan tüm hastaların 35 yaşın altında olduğu izlendi ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Allel pozitifliği tespit edilen hastaların test için başvuru merkezlerinin coğrafik değerlendirmesi sonucunda; iki hastanın Karadeniz Bölgesinden, birer hastanın Ege Bölgesi, İç Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinden olduğu tespit edildi. En sık allel pozitifliği Karadeniz Bölgesinde izlenmekle birlikte örnek sayısına oran değerlendirmeye alındığında Ege Bölgesinde allel pozitifliği diğer bölgelere göre daha yüksektir. Ancak Ege Bölgesinde test edilen örnek sayısının ve pozitiflik sayısının düşük olması nedeniyle bu yüksek oranın dikkatle değerlendirilmesi gereklidir. Bu durum bizlere çok daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermiştir. Ek olarak tanı alınan merkez her zaman hastanın yaşadığı yer olmayabilmekte, kendi yaşadıkları şehir yerine başka merkezlerde takip edilmek isteyen hastalar da olabilmektedir. Bu nedenle HLA-B57:01 ile köken analizi ya da etnik yapı araştırılabilmesi için hastaların ailesinin de kökeni, yaşadığı yer ve ne kadar uzun süredir bu bölgede yaşadıkları da göz önüne alınarak karar verilmesi gereken bir süreçtir.

Yakın ve uzak tarihsel süreç dikkate alındığında, ülkemiz farklı etnik kökenlerin bir arada yaşadığı ve farklı coğrafyalardan gelen insan topluluklarının süreç içinde birbiri ile kaynaştığı kozmopolit bir popülasyona sahip olduğundan, HLA-B57:01 allel geni pozitifliğine Avrupa ortalamaları değerinde bir netice almış olmamız beklenen sonuç olarak değerlendirilebilir.

Bununla birlikte alışmamızda HLA-B57:01 allel prevalansının klinik yansımaları, hipersensitivite reaksiyonu izlenme durumu ve vakaların antiretroviral tedaviye virolojik yanıt durumu değerlendirilememiştir.

Çalışmanın diğer bir kısıtlaması ise bazı bölgelerden test edilen örneklerin bölgesel temsiliyet olamayacak şekilde düşük olmasıdır. İlerleyen dönemde tüm bölgeleri temsil edecek yeterli sayıda örneklerin çalışmaya dahil edildiği, özellikle allel varlığı ile birlikte bu allelin klinik yansımalarının da değerlendirilebileceği, HLA-B57:01 allel ile CD4 Th lenfosit sayısı arasındaki ilişkinin saptanabileceği, aşırı duyarlılık reaksiyonu veya benzeri semptomlarda deri yama testi gibi daha geniş kapsamlı çalışmaların yürütülmesi gerektiği ve bu çalışmamızın da sonraki çalışmalara ışık tutacağı kanaatine varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. CDC. Pneumocystis pneumonia --- Los Angeles. MMWR 1981;30:250-2.
2. Jaffe HW, Francis DP, McLane MF, Cabradilla C, Curran JW, Kilbourne BW, et al. Transfusion-associated AIDS: serologic evidence of human T-cell leukemia virus infection of donors. Science 1984;223:1309–1312.
3. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983;220:868–871.
4. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, Robert-Guroff M, Richardson E, Kalyanaraman VS, et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983; 220: 865–867.
5. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos-Ferreira MO, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. Science 1986;233: 343–346.
6. Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. Clin Infect Dis 2011; 52:780–7.
7. Gottlieb GS, Eholié S-P, Nkengasong JN, Jallow S, Rowland-Jones S, Whittle HC, et al. A call for randomized controlled trials of antiretroviral therapy for HIV-2 infection in West Africa. AIDS 2008;22:2069–72.
8. Fields Virology. Ed. Knipe DM, Howley PM. – 6th ed. Philadelphia, PA 19103, USA. Volume 2. HIV-1: Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. Ed. Kuritzkes DR, Koup RA.
9. UNAIDS. 90–90–90: an ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic.2020; https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_aids-data-book_en.pdf.
10. Fearon M. The laboratory diagnosis of HIV infections. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2005;16(1):26–30.
11. Centers for Disease Control and Prevention and Association of Public Health Laboratories. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection: Updated Recommendations. <http://dx.doi.org/10.15620/cdc.23447>. June 27, 2014.
12. Daar ES, Little SJ, Pitt J, Santangelo J, Ho P, Harawa N, et al. Diagnosis of primary HIV-1 infection. Ann Intern Med 2001;134:25–29.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Criteria for laboratory testing and diagnosis of human immunodeficiency virus infection; approved guideline. CLSI document M53-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute;2011.
14. Branson BM. The future of HIV testing. J Acquir Immune Defic Syndr 2010; 55: S102-S105.
15. Branson BM. State of the art for diagnosis of HIV infection. Clin Infect Dis 2007; 45: S221-S225.
16. WHO recommends countries move away from the use of Western Blotting and Line Immunoassays in HIV testing strategies and algorithms. November 2019. WHO reference number WHO/CDS/HIV/19.30. file:///C:/Users/HP/Downloads/WHO-CDS-HIV-19.30-eng%20(1).pdf.

17. HIV/AIDS Tanı ve Tedavi Rehberi, 2019, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı Yayın No 1133, Ankara, 2019.
18. World Health Organization. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Recommendations for a public health approach. Available at: <http://www.who.int/hiv/pub/arv/arv-2016/en/>.
19. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>.
20. Günthard HF, Calvez V, Paredes R, Pillay D, Shafer RW, Wensing AM, Jacobsen DM, Richman DD. Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance:2018 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *CID* 2019;68: 177-87.
21. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995; 267, 483-489.
22. WHO/HIVResNet HIV drug resistance laboratory operational framework. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
23. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>.
24. Peters PJ, Marston BJ, Weidle PJ, Brooks JT. 2013;. Human Immunodeficiency Virus Infection. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease*, 217–247.
25. Carter JB, Saunders VA (2007). *Virology : principles and applications* (1st ed.). Chichester, England: John Wiley & Sons. p. 191. ISBN 978-0-470-02386-0.
26. Olson ED, Musier-Forsyth K (February 2019). "Retroviral Gag protein-RNA interactions: Implications for specific genomic RNA packaging and virion assembly". *Seminars in Cell & Developmental Biology*. SI: Human dendritic cells. 86: 129–139.
27. Kim FJ, Battini JL, Manel N, Sitbon M (January 2004). "Emergence of vertebrate retroviruses and envelope capture". *Virology*. 318 (1): 183–91
28. Carter JB, Saunders VA (2007). *Virology : principles and applications*. Chichester, England: John Wiley & Sons. ISBN 978-0-470-02386-0. OCLC 124160564.
29. Moelling K, Broecker F, Kerrigan JE (2014). "RNase H: specificity, mechanisms of action, and antiviral target". *Human Retroviruses. Methods in Molecular Biology*. 1087. pp. 71–84.
30. Svarovskaia ES, Cheslock SR, Zhang WH, Hu WS, Pathak VK (January 2003). "Retroviral mutation rates and reverse transcriptase fidelity". *Frontiers in Bioscience*. 8 (1–3): d117–34.
31. Rodger, Alison J.; Cambiano, Valentina; Bruun, Tina; Vernazza, Pietro; Collins, Simon; Degen, Olaf; et al. (2019). "Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study". *The Lancet*. 393 (10189): 2428–2438.
32. Eisinger, Robert W.; Dieffenbach, Carl W.; Fauci, Anthony S. (2019). "HIV viral load and transmissibility of HIV infection: Undetectable equals untransmittable". *JAMA*. 321 (5): 451–452.
33. Cunningham AL, Donaghy H, Harman AN, Kim M, Turville SG (2010). "Manipulation of dendritic cell function by viruses". *Current Opinion in Microbiology*. 13 (4): 524–529.
34. Various (2008). HIV Sequence Compendium 2008 Introduction (PDF).

35. Chan DC, Fass D, Berger JM, Kim PS (1997). Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell*. 89 (2): 263–73.
36. Park, Paul Terasaki, Origins of the first HLA specificities, *Human Immunology*, Volume 61, Issue 3, March 2000, Pages 185-189.
37. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO. Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2019 – 2018 data. Stockholm: ECDC; 2019.
38. *AIDS* 2013, 27: 2587–2592.
39. Butto S et al. Laboratory diagnostics for HIV infection. *Ann Ist Super Sanita* 2010; 46(1): 24-33.
40. QIAgen DNA Blood kit manual.
41. Cascella, R., Strafella, C., Ragazzo, M., Zampatti, S., Borgiani, P., Gambardella, S., Pirazzoli, A., Novelli, G., & Giardina, E. Direct PCR: a new pharmacogenetic approach for the inexpensive testing of HLA-B*57:01. *The pharmacogenomics journal*, 2015;15(2), 196–200.
42. Zeytinoğlu A, Kayın M, Altuğlu İ, Gökengin D, Sertöz R. İki Anti-HIV doğrulama testinin karşılaştırılması: Rekombinant HIV ½ Line İmmunoassay ve Geenius HIV ½ doğrulama testi. *Mikrobiyol Bul* 2020; 54(4): 613-618.
43. Demir T, Yıldırım D, Kılıç S. Yeni HIV Tanı Algoritmasına Geçiş Sürecinde Ulusal HIV-AIDS Referans Merkezi'nin Deneyimi: Line-İmmunoassay Test ve Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 Antikor Ayırt Edici Hızlı Doğrulama Testleri Karşılaştırmalı Analizi. *Mikrobiyol Bul* 2021;55(1):17-29.
44. Motomura K, Chen J, Hu W. Genetic recombination between Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) and HIV-2, Two distinct human Lentiviruses. *J Virol*; 2008; 82:1923-1933.
45. Ryyom L, Cotter A, Miguel R, et al. 2019 update of the European AIDS Clinical Society Guidelines for treatment of people living with HIV version 10.0. *HIV Medicine* 2020; 21: 617-624.
46. EACS European AIDS Clinical Society. 2020 Guidelines. Version 10.1. October 2020.
47. Seitz R. HIV. *Transfus Med Hemother* 2016; 43: 203-222.
48. Butto S, Sullgol B, Fanales-Belaslo E, Ralmondo M. Laboratory diagnosis for HIV infection. *Ann Ist Super Sanita* 2010; 46(1): 24-33.
49. Martin MA, Klein TE, Dong BJ, Pirmohamed M, Haas DW, Kroetz DL; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for HLA-B genotype and abacavir dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2012;91(4):734-8.
50. Martin MA, Hoffman JM, Freimuth RR, Klein TE, Dong BJ, Pirmohamed M, Hicks JK, Wilkinson MR, Haas DW, Kroetz DL; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for HLA-B Genotype and Abacavir Dosing: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;95(5):499-500.
51. Poggi H, Vera A, Lagos M, Solari S, Rodriguez L, Perez CM. HLA-B 57:01 frequency in Chilean HIV infected patients and in general population. *Braz J Infect Dis* 2010; 14(5): 510-12.
52. Lucas A, Nolan D, Mallal S. HLA-B 57:01 screening for susceptibility to abacavir hypersensitivity. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 591-593.
53. Buitrago EM, Onate JM, et al. HLA-B57:01 allele prevalence in treatment naive HIV

infected patients from Colombia. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 793.

54. Deveci A, Çoban AY, Durupınar B. HIV ile enfekte hastalarda insan lökosit antijeni (HLA)-B 57:01 prevalansı. *Mikrobiyol Bul* 2016; 50(4): 544-551.
55. Güncel Bilgiler Işığında HIV/AIDS. Ed. Unal S. Bilimsel Tıp Yayınları. Ankara.
56. Demir T, Kılıç S. HIV/AIDS Enfeksiyonunda Tanı ve İlaç Direnci. Taşova Y, ed. HIV ve AIDS. 1. Baskı. Ankara. Türkiye Klinikleri. 2021; p.39-50.
57. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology)
58. UK Collaborative HIV Cohort Study Steering Committee. HLA B*5701 status, disease progression, and response to antiretroviral therapy. *AIDS*. 2013;27(16):2587-2592. doi:10.1097/01.aids.0000432613.95455.71
59. Ma JD, Lee KC, Kuo GM. HLA-B*5701 testing to predict abacavir hypersensitivity. *PLoS Curr*. 2010;2:RRN1203. Published 2010 Dec 7. doi:10.1371/currents.RRN1203
60. Mallal S, Phillips E, Carosi G, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med*. 2008;358:568–79.
61. Saag M, Balu R, Phillips E, et al. High sensitivity of human leukocyte antigen-b*5701 as a marker for immunologically confirmed abacavir hypersensitivity in white and black patients. *Clin Infect Dis*. 2008;46:1111–8.
62. Rodríguez-Nóvoa S, García-Gascó P, Blanco F, et al. Value of the HLA-B*5701 allele to predict abacavir hypersensitivity in Spaniards. *AIDS Res Hum Retrovir*. 2007;23:1374–6.
63. Campbell MC, Tishkoff SA. African genetic diversity: implications for human demographic history, modern human origins, and complex disease mapping. *Ann Rev Genom Hum Genet*. 2008;9:403–33.
64. Hughes AR, Mosteller M, Bansal AT, et al. Association of genetic variations in HLA-B region with hypersensitivity to abacavir in some, but not all, populations. *Pharmacogenomics*. 2004;5:203–11.
65. Nolan D, Gaudieri S, Mallal S. Pharmacogenetics: a practical role in predicting antiretroviral drug toxicity? *J HIV Ther*. 2003;8:36–41.
66. Cao K, Hollenbach J, Shi X, Chopek M, Fernández-Viña MA. Analysis of the frequencies of HLA-A, B, and C alleles and haplotypes in the five major ethnic groups of the United States reveals high levels of diversity in these loci and contrasting distribution patterns in these populations. *Hum Immunol*. 2001;62:1009–30.
67. Orkin C, Wang J, Bergin C, Molina JM, Lazzarin A, Cavassini M, Esser S, Gómez Sirvent JL, Pearce H. An epidemiologic study to determine the prevalence of the HLA-B*5701 allele among HIV-positive patients in Europe. *Pharmacogenet Genomics*. 2010 May;20(5):307-14. doi: 10.1097/FPC.0b013e3283390666. PMID: 20375757.
68. Leszczyszyn-Pynka M, Aksak-Wąs B, Urbańska A, Parczewski M. Protective effect of HLA-B*5701 and HLA-C -35 genetic variants in HIV-positive caucasians from Northern Poland. *PLoS One* 2015; 10(6): e0127867.
69. Young B, Squires K, Patel P, et al. First large, multicenter, open-label study utilizing HLA-B*5701 screening for abacavir hypersensitivity in North America. *AIDS* 2008; 22(13): 1673-81.
70. Berka N, Gill JM, Liacini A, O'Bryan T, Kha FM. Human leukocyte antigen (HLA) and pharmacogenetics: screening for HLA-B*57:01 among human immunodeficiency virus positive patients from southern Alberta. *Human Immunol* 2012; 73(2): 164-7.

71. <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/bulasici-hastaliklar/hiv-aids/hiv-aids-liste/hiv-aids-istatistik.html>
72. Nolan ve ark. J HIV Ther 2003; 8:36
73. CDC, Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV infection, Updated Recommendations, CDC, 2014. <http://stacks.cdc.gov/view/cdc/23447>
74. T.C. Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Daire Başkanlığı, Ulusal HIV-AIDS Doğrulama ve Viral Hepatitler Referans Laboratuvarı Arşivi

