

T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HIV POZİTİF HASTALARDA CD4 DÜZEYLERİNE GÖRE BK
VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI

PELİN GÜNAYDIN
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. SELÇUK KAYA

2020-İZMİR

T.C.
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HIV POZİTİF HASTALARDA CD4 DÜZEYLERİNE GÖRE BK
VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI

PELİN GÜNAYDIN
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. SELÇUK KAYA

2020-İZMİR

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı** **Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

Üye :

*(Ünvanı, Adı Soyadı) (Üniversite) (İMZA)

ONAY : Butezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

(İMZA)
(Ünvanı, Adı Soyadı)
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini İzmir Katip Çelebi Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**
(Bu seçenekte teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)
- **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç)**
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.)
- **Tezimin/Raporumun..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

..../..../....

İmza

Ad-Soyad

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimselnormlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Tez Danışmanım..... danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Ad-Soyad

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim hayatımda, bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima her adımda yanımda olan çok sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Selçuk KAYA'ya, eğitimim boyunca bana yol gösteren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın çok değerli hocalarına teşekkür ederim. Destekleri ile her zaman yanımda olan sevgili Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma ve eğitim sürecimin baştan sona her anında, manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima yanımda olan aileme teşekkür ederim.



ÖZET

HIV POZİTİF HASTALARDA CD4 DÜZEYLERİNE GÖRE BK VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Giriş: BK virüs (BKV) enfeksiyonu, özellikle son yıllarda bağışıklık sistemi baskılanmış hastalardaki artış nedeniyle daha fazla görülmeye başlanmıştır. İmmüsupresyon, özellikle de hücrel immün yetmezlik, BKV reaktivasyonunun en önemli nedeni olarak görülmektedir. HIV-1 enfeksiyonu, günümüzde edinilen bağışıklık yetmezliğinin en sık nedenini temsil etmektedir. Hastalarda CD4 değerleri azaldıkça fırsatçı enfeksiyonların görülme ihtimali artmaktadır. HIV enfeksiyonuna bağlı uzun süreli immüsupresyon, BKV'yi AIDS hastalarına karşı “fırsatçı enfeksiyon” olarak nitelendirmiştir. Bu durum HIV hastalarında morbidite ve mortalite nedeni olabilir. Bu yüzden BKV enfeksiyonu erken tanısı, HIV (+) hastalarda oldukça önem arz etmektedir. Türkiye’de BK virüs ile ilgili çalışmalar daha çok organ nakil alıcıları ile yapılmıştır. HIV hastaları ile yapılan bir çalışma olmadığından biz de bu çalışmada hastanemizde HIV (+) saptanan hastalarda BK virüsünü serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Hasta grubu için; 01.08.2019 - 01.06.2020 tarihleri arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvuran 64 HIV pozitif hastaya ait 64 idrar ve 62 kan örneği toplanmıştır. Kontrol grubu için; aynı tarihlerde aile hekimi polikliniğine başvuran 32 HIV negatif, bilinen bağışıklık sistemini baskılayacak hastalığı ve ilaç öyküsü olmayan sağlıklı bireylerden alınan 32 idrar ve 30 kan örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalardan serum örneği kullanılarak ELISA yöntemi ile BKV IgG, idrar numunesi kullanılarak real time PCR yöntemi ile BKV DNA sonuçlarını araştırdık.

Bulgular: Çalışma popülasyonunun %73,9’unda BKV serolojisi pozitif. 64 HIV (+) hastanın 13’ünün (%20,3) idrarında BKV DNA görülürken kontrol grubundaki 32 gönüllünün, sadece birinde (%3) virüri saptadık. Virüri sonuçlarına göre HIV (+) hastalar ile sağlıklı gönüllüler arasında anlamlı bir fark bulundu (p: 0,025). HIV enfekte hastaları, CD4 düzeylerine göre gruplandırdığımızda; CD4 < 200 hücre/mm³ olan hastalarda idrarda BKV pozitifliğini daha fazla bulduk. CD4 200 hücre/mm³ sınırının altı ve üzerindeki değerler ile BKV DNA sonuçları arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (p: 0,012).

Sonuç: Sonuç olarak, HIV (+) hastalarda BKV IgG oranını %78,7; BKV virüsünü %20,3 bulduk. HIV enfeksiyonunda hücrel ve humoral bağışıklık etkilendikçe BKV reaktivasyonu artacak ve nefropati dışında birçok klinik tabloya sebep olacaktır. Bu çalışmada hastaların HIV viral yükü artıp, CD4 sayısı düştükçe idrarda BKV DNA görülme sıklığının arttığını gösterdik. HIV (+) hastalarda sağlıklı bireylere göre hem BKV IgG antikor pozitifliğini, hem de BKV virüsünü daha yüksek oranlarda bulduk. Bu durum immüsupresif hastalarda özellikle HIV’li bireylerde BKV enfeksiyonunun araştırılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: BKV DNA, virüri, HIV, Real-time PCR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF BK VIRUS BY SEROLOGICAL AND MOLECULAR METHODS ACCORDING TO CD4 LEVELS IN HIV POSITIVE PATIENTS

Introduction: BK virus (BKV) infection has been seen more frequently in recent years due to the increase in immunocompromised patients. Immunosuppression, especially cellular immune deficiency, is seen as the most important cause of BKV reactivation. HIV-1 infection represents the most common cause of immunodeficiency acquired today. As CD4 values decrease in patients, the likelihood of opportunistic infections increases. Long-term immunosuppression due to HIV infection has characterized BKV as an “opportunistic infection” against AIDS patients. This situation may cause high morbidity and mortality in HIV patients. Therefore, early diagnosis of BKV infection is very important in HIV (+) patients. Studies on the BK virus in Turkey was made with more organ transplant recipients. Since there is no study with HIV patients, we aimed to investigate BK virus in patients with HIV (+) in our hospital with serological and molecular methods.

Method: The samples of the patients who came to İzmir Katip Çelebi University Atatürk Training and Research Hospital between 01.08.2019 - 01.06.2020 were used. For the patient group; 64 urine and 62 blood samples of 64 HIV positive patients who came to the Infectious Diseases Polyclinic were collected. For the control group; 32 urine and 30 blood samples were collected from 32 HIV-negative healthy individuals who came to the family physician outpatient clinic, who did not have a known immune system suppressing disease and a history of medication. We investigated the BKV DNA results by using BKV IgG using ELISA method and BKV DNA using real time PCR method using serum samples from patients.

Results: BKV serology was positive in 73.9% of the study population. BKV DNA was observed in the urine of 13 (20.3%) of 64 HIV (+) patients, while viruria was detected in only one (3%) of 32 volunteers in the control group. According to viruria results, a significant difference was found between HIV (+) patients and healthy volunteers ($p: 0.025$). When we group HIV infected patients according to their CD4 levels; We found more BKV positivity in urine in patients with $CD4 < 200$ cells / mm^3 . A statistically significant difference was found between the values below and above the $CD4 200$ cells / mm^3 limit and BKV DNA results ($p: 0.012$).

Conclusion: As a result, the BKV IgG rate in HIV (+) patients was 78.7%; We found BKV virus 20.3%. As cellular and humoral immunity is affected in HIV infection, BKV reactivation will increase and cause many clinical manifestations other than nephropathy. In this study, we showed that the incidence of BKV DNA in the urine increased as the HIV viral load of the patients increased and the CD4 count decreased. We found both BKV IgG antibody positivity and BKV virus at higher rates in HIV (+) patients compared to healthy individuals. This situation reveals the importance of investigating BKV infection in immunosuppressive patients, especially in individuals with HIV.

Key words: BKV DNA, viruria, HIV, Real-time PCR

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Sınıflandırma	5
2.3. BK Virüs Genomu	6
2.4. BKV Virüsün Yaşam Döngüsü	9
2.5. Epidemiyoloji	11
2.6. Serotipler	12
2.7. Patogenez	13
2.8. İmmün Yanıt	15
2.9. Klinik	17
2.10. BK Virüs İlişkili Hastalıklar	18
2.10.1. Nefropati	18
2.10.2. Üreteral Darlık	20
2.10.3. Hemorajik Sistit	20
2.10.4. Kanser	21
2.10.5. Diğer Klinik Bulgular	22
2.11. Tanı	22
2.11.1. Sitolojik İnceleme	22
2.11.2. Serolojik Testler	24
2.11.3. Moleküler Testler	25
2.11.4. Elektron Mikroskopisi	26
2.11.5. Biyopsi	26
2.11.6. Hücre Kültürü	28
2.12. Tedavi	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Çalışma Yeri	30
3.2. Çalışmada Kullanılan Hasta Numunelerinin Temini	30
3.3. Etik Kurul Onayı	30

3.4. Aydınlatılmış Onam	30
3.5. Proje Desteği	30
3.6. İstatistiksel Analiz	31
3.7. Gerekli Malzemeler	31
3.7.1. Hasta Numularının Toplanması ve Depolanması Sırasında Kullanılanlar	31
3.7.2. Serolojik Yöntemlerle BKV IgG Araştırılması İçin Kullanılanlar	31
3.7.3. BKV DNA Nükleik Asit İzolasyonu İçin Gerekli Malzemeler	32
3.7.4. BKV DNA Nükleik Asit Amplifikasyonu Basamağında Kullanılanlar	32
3.7.5. HIV RNA Nükleik Asit İzolasyonu ve Amplifikasyonu Basamağında Kullanılanlar	32
3.8. Yöntem	32
3.8.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	32
3.8.2. Serum Örneklerinden Serolojik Yöntemle Antikor Arama	33
3.8.3. Örneklerden BKV DNA Nükleik Asit İzolasyonu	36
3.8.4. BKV DNA Amplifikasyonu	38
3.8.5. BK Virüs Real Time PCR Sonuçların Değerlendirilmesi	39
3.8.6. Plazma Örneklerinden HIV RNA'nın İzolasyonu ve Amplifikasyonu	41
4. BULGULAR	43
4.1. Demografik Veriler	43
4.2. Yöntemlere Göre Pozitif Saptanan Örnekler	44
4.2.1. Serum Örneklerinden BKV IgG Araştırılması	44
4.2.2. İdrar Örneklerinden BKV DNA Araştırılması	45
5. TARTIŞMA	50
5.1. Transplantasyon Sonrası BKV DNA Sonuçları	51
5.2. HIV ile Enfekte Hastalarda BKV DNA Sonuçları	54
5.3. Ülkemizde BKV ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	58
KAYNAKLAR	63
EKLER	71
EK 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	71
EK 2. Etik Kurul Komisyon Kararı	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS : Acquired Immune Deficiency Syndrome/Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
BKV : BK Virüs
BKVN : BK Virüs İlişkili Nefropati
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı
CMV : Sitomegalovirüs
CT : Critical Threshold (Kritik eşik değer)
DM : Diabetes Mellitus
DNA : Deoksiribonükleik asit
dsRNA : Çift İplikli RNA
E : Erkek
EGVR : Erken Viral Gen Bölgesi
EIA : Enzyme Immunassay
HD5 : İnsan Alfa Defensin 5
HIV : Human Immunodeficiency Virus/İmmün Yetmezlik Virüs
HPV6 : İnsan polyomavirüsü 6
HPV7 : İnsan polyomavirüsü 7
HPV9 : İnsan polyomavirüsü 9
HPV10 : İnsan polyomavirüsü 10
HPV11 : İnsan polyomavirüsü 11
HPV12 : İnsan polyomavirüsü 12
HPV13 : İnsan polyomavirüsü 13
ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses
IFN- γ : Gamma İnterferon
IgG : İmmunglobulin G
IgM : İmmunglobulin M
IVIG : İntravenöz İmmungloblin
İBH : İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
JCV : JC Virüs
K :Kadın
KC : Karaciğer
KIPyV : Karolinska Institute Polyomavirüs
KİT : Kemik iliği Transplantasyonu
LT : Large T - Büyük T
LVGR : Geç Viral Gen Bölgesi
MCPyV: Merkel Cell Polyomavirüs
MPyV : Mouse Polyomavirüs
MuPyV : Murine Polyomavirüs
MWPyV : Malawi Polyomavirüs
MXPyV : Mexico Polyomavirüs
NCCR : Noncoding Control Region - Kodlama Yapmayan Bölge
NK : Natural Killer
PCR : Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RIG-I : Retinoik Asit İndüklenebilir Gen I

sT : Small T - Küçük T
STLPyV : Saint Louis Polyomavirüs
SV 40 : Smian Vacuolating Virüs 40
TNF : Tümör Nekroz Faktörü
TLR3 : Toll Benzeri Reseptör 3
Trunc-Tag : Trunke Tümör Antijeni
TSPyV : Trichodysplasia Spinulosa-associated Virus
VP : Viral Protein
WBC : White Blood Cell - Beyaz Küre
WHIM : Wart, Hypogammaglobulinemia, Infections, Myelokathexis Sendromu
WUPyV: Washington University Polyomavirüs



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Polyomavirüslerinin sınıflandırılması ve filogenetik ilişkileri.	6
Şekil 2: BK virüs genomu [26].	7
Şekil 3: BKV genomunun şematik yapısı [28].	9
Şekil 4: Polyomavirüslerin replikasyon döngüsü [9].	10
Şekil 5: BK virüs nefropatisi oluşumu [52].	16
Şekil 6: BK virüsün patofizyolojisi ve BKVN gelişimi.	19
Şekil 7: BKV nefropatisiyle ilişkili risk faktörleri [39].	20
Şekil 8: Ekstraksiyon kit protokolünün şematik gösterimi.	37
Şekil 9: Hasta grubundaki kantitasyon standartlarının green kanalı içinde saptanması.	40
Şekil 10: Çalışma gruplarının yaşa göre dağılımı.	43
Şekil 11: Hasta grubundaki BKV DNA pozitifliğini gösteren amplifikasyon eğrisi.	47

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Decoy hücreleri.....	23
Resim 2: Hemotoksilen eozin boyası ile epitel hücrelerinde karakteristik bazofilik intranükleer inklüzyon cisimleri.	27
Resim 3: ELISA-VIDITEST anti-BKV IgG kiti.	34
Resim 4: BKV IgG testinin yapım aşamaları.....	35
Resim 5: Abbott m2000sp cihazı.	41
Resim 6: Abott RealTime HIV-1 Reagent kiti.....	42



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: BKV serotip I ve IV'ün popülasyonlar arası dağılımı [43].	13
Tablo 2: BK virüsünün sistemlere göre oluşturduğu hastalıklar [3].	18
Tablo 3: İdrarın sitolojik incelemesinin etkenlere göre değerlendirilmesi [63].	24
Tablo 4: BKV IgG kit içeriği.	34
Tablo 5: BKV IgG sonuçların yorumlanması.	36
Tablo 6: Ekstaksiyon kiti içeriği.	36
Tablo 7: Amplifikasyon kit içeriği.	38
Tablo 8: Amplifikasyon protokolü.	38
Tablo 9: Pcr döngü protokolü.	39
Tablo 10: PCR'da kullanılan kanallar ve dalga boyları.	39
Tablo 11: Hasta grubundaki kantitasyon standartlarının konsantrasyon ve Ct değerleri.	40
Tablo 12: Çalışma gruplarının cinsiyet dağılımı.	43
Tablo 13: Hasta grubunun demografik özellikleri.	44
Tablo 14: Çalışma grubunda yaş gruplarına göre BKV IgG sonuçları.	44
Tablo 15: Çalışma gruplarının BKV IgG pozitiflikleri.	45
Tablo 16: BKV DNA sonuçları ile BKV IgG sonuçlarının karşılaştırılması.	45
Tablo 17: Hasta grubundaki PCR pozitifliklerinin cinsiyete göre dağılımı.	46
Tablo 18: BKV DNA sonuçları ile yaş karşılaştırılması.	46
Tablo 19: Çalışma gruplarının BKV DNA sonuçlarıyla karşılaştırılması.	46
Tablo 20: İdrarda BKV DNA görülen hastaların diğer laboratuvar sonuçları.	47
Tablo 21: BKV DNA ile HIV RNA sonuçlarının karşılaştırılması.	48
Tablo 22: BKV DNA sonuçları ile HIV RNA gruplarının karşılaştırılması.	49
Tablo 23: BKV DNA sonuçları ile CD4 değerlerinin karşılaştırılması.	49

1. GİRİŞ VE AMAÇ

BK virüs (BKV) dünyada yaygın olarak bulunan ve özellikle immun sistemi baskılanmış kişilerde reaktivasyona neden olarak enfeksiyona neden olan latent virüslerdir. *Polyomaviridae* ailesine ait olan polyomavirüslerden biri olan BKV ikosahedral kapside ve çift sarmallı DNA'ya sahip zarfsız, küçük virüslerdir.

Virüsün konağa giriş yolu solunum ve fekal/oral yoldur. Kan, semen organ nakli ile nadir bulaş görülmektedir [1]. BK virüs enfeksiyonları özellikle çocukluk çağında ve asemptomatik olarak görülür. Primer enfeksiyonu geçiren çocuklarda ateş, belirgin olmayan üst solunum yolu enfeksiyon semptomları, akut sistit şeklinde görülebilir. İmmunkompetan yetişkinlerde de benzer bir tablo tonsillit şeklinde ortaya çıkabilir. Primer enfeksiyon sonrası BK virüs; böbrek, mesane, üreteral epitelde ve lenfoid sistem hücrelerinde latent kalabilmektedir [2]. BKV kısmi veya mutlak hücre bağışıklık yetmezliği sırasında latent enfekte kişilerde yeniden aktif hale gelebilir. Asemptomatik virüriden, şiddetli birçok hastalığa kadar değişik tablolara neden olabilir [1]. BKV genitoüriner sistem hücrelerine tropizm gösterir. İmmunsuprese kişilerde hemorajik sistit ve üreteral darlığa neden olur. Ayrıca böbrek transplantasyonu yapılanlarda erken fark edilmezse polyomavirüs ilişkili nefropatiye neden olabilir. Polyomavirüs ilişkili nefropati; renal bazal membran epitelinde nekroz ve litik destrüksiyon ile birlikte interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi ile karakterizedir. Hastalığın ilk belirtileri, artmış serum kreatin seviyeleri ve bunu takiben saptanabilen virüridir. Hematüri, lenfositel veya obstrüktif üropati de görülebilir. Bunların dışında BK virüsün pnömoni, hepatit, retinit, meningoensefalit yaptığına dair yayınlar da mevcuttur [3, 4, 5].

BK virüs enfeksiyonları genellikle belirtisiz veya hafif ve spesifik olmayan belirtilerle seyretmesi nedeni ile klinik tanı konulması mümkün olmamaktadır. Toplumda BKV seroprevalansı %75-90 olduğundan serolojik yöntemler tanı amacıyla tek başına kullanılamamaktadır. Duyarlılık ve özgüllüğü en yüksek mikrobiyolojik testler moleküler yöntemlerdir. Kan, idrar, BOS gibi örneklerden BKV DNA tespiti için günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. BK virüs nefropatisinde öncelikle virüri oluşmaktadır. Viremi genellikle virüriden 2-4 hafta sonra ortaya çıkmaktadır. BK virüs için plazmada yüksek viral konsantrasyonlar daha az görülmektedir. Bu nedenle tanı amacıyla idrarda kantitatif olarak BKV yükü bakılması önerilmektedir.

BKV'nin çoğalması ve hastalık oluşturması için immunsüpresyonun derecesinin, önemli bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir. HIV-1 enfeksiyonu, günümüzde edinilen bağışıklık yetmezliğinin en sık nedenini temsil etmektedir. Doğal seyir, ilerleyen CD4 hücrelerinin azalması ve yaşamı tehdit eden fırsatçı komplikasyonlarla karakterizedir. Polyomavirüsler de AIDS için bir fırsatçı enfeksiyon tablosu oluşturmaktadır [3].

Ülkemizde henüz immun yetmezlikli grup olan HIV hastalarında BKV sıklığını gösteren bir çalışma olmadığından; bu virüsün HIV pozitif hastalardaki ilişkisini ve HIV (+)'lerdeki CD4 değerinin BKV virürisi arasındaki korelasyonu gösterip, ülkemiz epidemiyolojisine ve hastaların kliniğine katkı sağlayacağını düşündüğümüzden bu çalışmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Doğada yaygın olarak bulunmaları ve birçok omurgalı türünü enfekte etmesiyle bilinen polyomaviruslar; vücutta birçok klinik duruma yol açabilirler. Latent olarak kalabilir, immunsupresif kişilerde reaktivasyona uğrayıp olarak klinik duruma yol açabilir, onkojenik potansiyelleri ve bazı insan tümörleriyle ilişkileri sebebiyle insan sağlığı açısından önem arz eder. Latince’de polyomavirus, “çok sayıda tümör oluşturan virüs” (*poly-*: çok, *-oma*: tümör) anlamını taşımaktadır.

Bilinen ilk polyomavirüs olan Murine K virüsü (MuPyV) Kilham tarafından 1952 yılında farelerde tanımlanmıştır [6]. Sonrasında 1953 yılında Gross tarafından “mouse polyomavirüs”ü (MPyV) olarak adlandırılan yeni doğan farelerde tümör oluşumuna neden olan virüs izole edilmiştir [7]. 1958 yılında polyomavirüs olarak tanımladıkları virüsün kemiricilerde tümör oluşumunu tetiklediği gösterilmiştir. Ailenin diğer üyesi 1960 yılında Rhesus tipi maymunları enfekte eden Simian polyomavirüs; Sweet ve Hilleman tarafından polio ve adenovirüs aşılarının başka virüslerle kontaminasyonunun araştırılması sırasında bulunmuştur [8]. Hücrelerde vakuol oluşturması ve maymunlarda görülen kırkinci virüs olması nedeniyle SV40 (*Simian vacuolating virus 40*) olarak isimlendirilmiştir. O dönemde yaklaşık 100 milyon kişiye yapılan ve onkojenik olduğu düşünülen SV40 ile kontamine aşılardan kansere yol açacağından korkulmuş fakat sonraki çalışmalarda bu durumu destekleyen bir kanıt bulunamamıştır [9].

Polyomaviridae ailesinin insanları enfekte ettiği bilinen ilk üyeleri BK ve JC virüsleri; 1971 yılında tanımlanmış olup izole edildikleri hastaların ad ve soyadlarının baş harfleri kullanılarak adlandırılmıştır [10]. Böbrek transplantasyonu yapılan nefropatik bir hastanın idrar örneğinden BKV, progresif multifokal lökoensefalopati (PML) gelişen Hodgkin lenfomalı bir hastanın beyin dokusundan ise JCV izole edilmiştir [11].

BK virüs, ilk olarak Gardner ve arkadaşları tarafından, böbrek transplantasyonu geçirdikten dört ay sonra üreter stenozu gelişen 39 yaşında Sudan’lı bir erkek hastadan (B.K.) alınan idrar örneğinden izole edilmiştir [12]. Hastadan alınan idrar örneği, ışık mikroskopunda incelendiğinde, çoğu mononükleer olan hücrelerin,

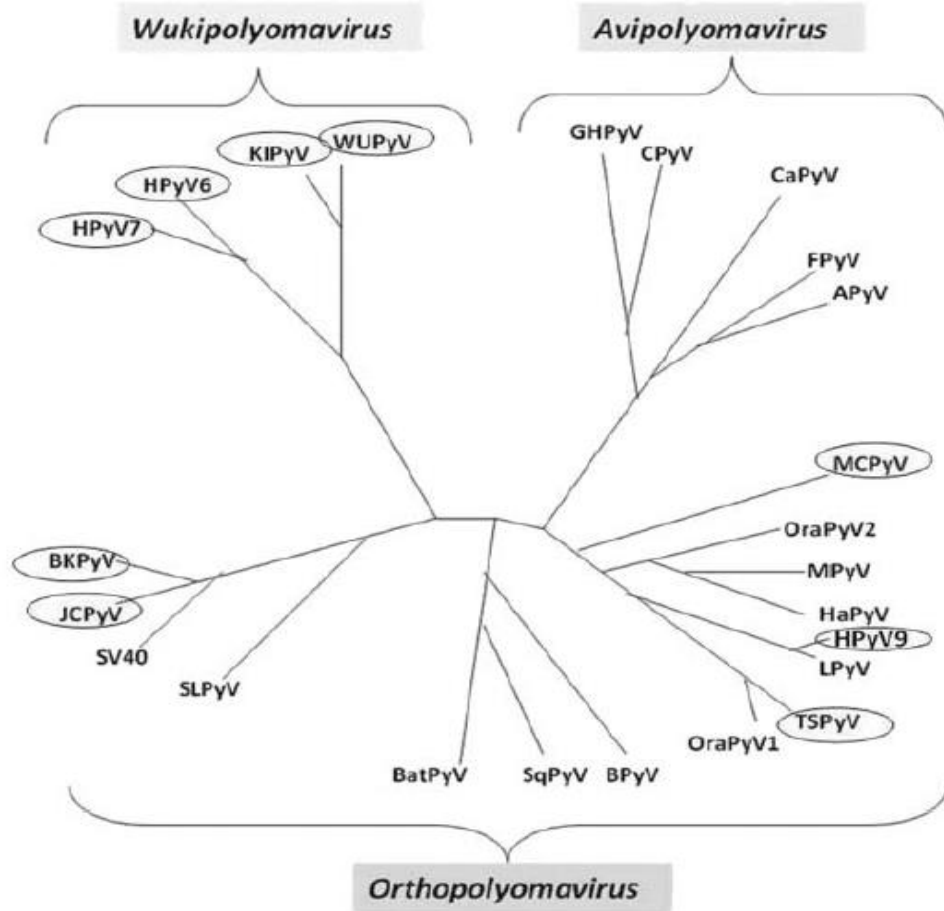
bazofilik intranükleer inklüzyon cisimleri içerdikleri; elektron mikroskobu incelemesinde ise polyomavirüs benzeri çok sayıda virüs partikülü bulunduğu görülmüştür.

BKV ve JCV, uzunca bir süre iyi bilinen iki insan polyomavirüsü olmuş; ancak son yıllarda sofistike moleküler yöntemler ve yeni nesil dizileme teknolojilerinin gelişmesine bağlı olarak, yeni tanımlanan insan polyomavirüslerinin sayısında büyük bir artış gözlenmiştir [13].

Yeni insan polyomavirüsleri olan KI (KIPyV) ve WU (WUPyV), 2007 yılında birbirinden bağımsız olarak, akut solunum yolu enfeksiyonu olan çocukların nazofaringeal aspirat örneklerinden izole edilmişlerdir [14, 15]. Bu virüsler, tanımlandıkları kurumların baş harfleri (KI; Karolinska Institute ve WU; Washington University) ile isimlendirilmiştir. 2008 yılında, Merkel hücre karsinomu olan bir hastanın tümör dokusunda yeni bir polyomavirüs genomu saptanmış ve *Merkel cell polyomavirus* (MCPyV) olarak adlandırılmıştır [16]. Daha sonra bunu, 2010 yılında sağlıklı erişkinlerin deri ve saç örneklerinden izole edilen iki polyomavirüs (HPyV6, HPyV7) ile kalp transplantasyonu yapılan bir hastanın keratolitik spikül örneğinden izole edilen bir polyomavirüs (*Trichodysplasia spinulosa-associated virus*; TSPyV) izlemiştir [17, 18]. 2011 yılında ise, böbrek transplantasyonu yapılan asemptomatik bir hastanın kan ve idrar örneğinden tanımlanan yeni polyomavirüs HPyV9 olarak isimlendirilmiştir [19]. 2012 yılına gelindiğinde, en yeni insan polyomavirüsleri olarak birbirini izleyen üç virüsün tanımlandığı görülmektedir. Bunlardan biri, WHIM (Wart, Hypogammaglobulinemia, Infections, Myelokathexis) sendromlu bir hastanın anal kondiloma örneklerinden tanımlanan HPyV10; diğeri Malawili sağlıklı bir çocuğun dışkı örneğinden tanımlanan MWPyV (*Malawi polyomavirus*); bir diğeri ise ishali olan Meksikalı bir çocuğun dışkı örneğinden tanımlanan MXPpyV (*Mexico polyomavirus*) virüsleridir [20, 21, 22]. 2013 yılının başında, Malawi'de sağlıklı bir çocuğun dışkı örneği ile St.Louis'de ishali olan bir çocuğun dışkı örneğinde yeni bir polyomavirüs daha tanımlanmış ve *Saint Louis polyomavirus* (STLPyV) olarak adlandırılmıştır [23]. En son olarak da Human polyomavirus 13 (HPyV13) de denilen New Jersey polyomavirus, 2014 yılında bildirilmiştir. Virüs, sistemik vaskülit, miyozit, ve retinal körlüğü olan pankreas nakilli bir hastadan alınan kas biyopsi örneğinden izole edilmiştir [24].

2.2. Sınıflandırma

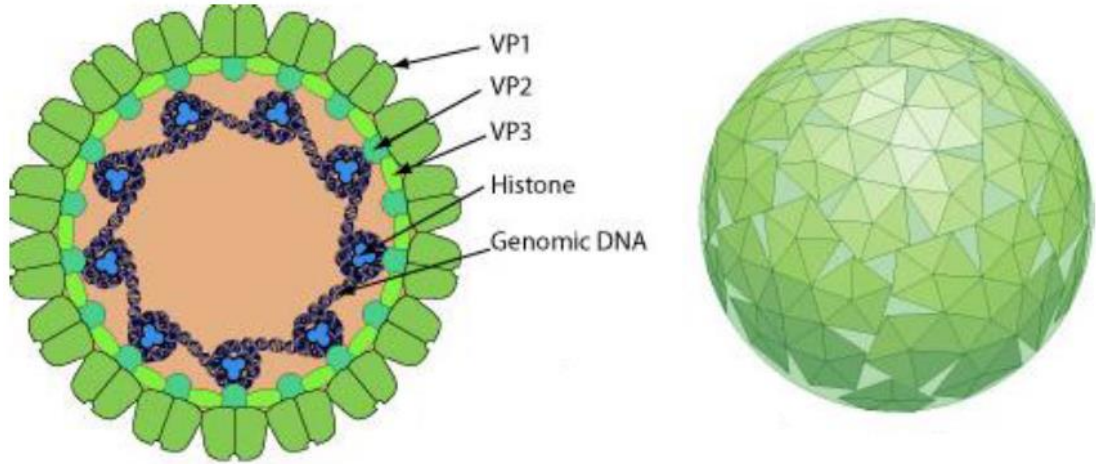
Önceden papillomavirüsler ile birlikte *Papovaviridae* ailesinde yer alan polyomavirüsler, 2000 yılından itibaren *Polyomaviridae* ailesi Polyomavirüs cinsi içinde sınıflandırılmıştır. Fakat ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) tarafından 2011 yılında yapılan yeni sınıflamada *Polyomaviridae* ailesi *Orthopolyomavirus*, *Wukipolyomavirus* ve *Avipolyomavirus* olarak üç cinse ayrılmıştır [25] (Şekil 1). Bunlardan Wukipolyomavirus sadece insan polyomavirüslerini (KIPyV, WUPyV, HPyV6, HPyV7); Orthopolyomavirus insan (BKV, JCPyV, MCPyV, TSPyV, HPyV9), primat (maymun, orangutan, şempanze, goril), kemirici (fare, hamster) ve diğer memeli (yarasa, sığır vb.) polyomavirüslerini; Avipolyomavirus ise kuş polyomavirüslerini içermektedir (Şekil 1). Bu cinsler içinde yer alan virüslerin tüm genom nükleotid dizi homolojisi %81-84 arasında olup; ICTV'ye göre dizi benzerliği %81'den az olan suşlar yeni bir virüs olarak kabul edilmektedir [25].



Şekil 1: Polyomavirüslerinin sınıflandırılması ve filogenetik ilişkileri { i) Filogenetik ağaç, tüm genom dizi analizine göre temsili olarak çizilmiştir; tüm türleri içermemektedir. ii) İnsan polyomavirusları daire içinde belirtilmiştir. iii) Bu ağaçta yer almayan HPyV10, MWPyV ve MXPpyV'nin ayrı bir dalda toplanmaları önerilmiştir [25]}.

2.3. BK Virüs Genomu

BKV 40-45 nm çapında, $3-5 \times 10^6$ dalton molekül ağırlığında 72 pentamere sahip; küçük, ikozahedral kapsid içeren zarfsız virüslerdir. Viral genom ortalama 5 kilobaz büyüklüğünde olup, çembersel, çift iplikli, hiper sarmal DNA'dan oluşmaktadır. Virionları ikozahedral simetri göstermektedir [26] (Şekil 2).



Şekil 2: BK virüs genomu [26].

Viral genom yapısının % 88'ini protein ve %12'sini DNA oluşturur [27]. BKV genomu üç bölgeye ayrılan toplam 5000 baz çiftinden oluşur. Bu bölgeler; düzenleyici proteinleri kodlayan erken gen bölgesi, kapsid proteinleri ile agnoproteinlerini kodlayan geç gen bölgesi ve replikasyon orijini ile erken ve geç genlerin transkripsiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan dizileri taşıyan kodlama yapmayan kontrol bölgesidir (noncoding control region - NCCR) (Şekil 3) [10, 28].

◆ **Erken viral gen bölgesi (EGVR):** Bu bölgede transkripsiyon, enfeksiyon sürecinde virüsün yaşam döngüsünün erken evresinde DNA replikasyonundan önce görülür. Büyük T (large T; LT) ve küçük T (small T; sT) antijeni olarak adlandırılan, yapısal olmayan, düzenleyici proteinleri kodlar. Bu antijenler nükleusta toplanır ve hücre büyümesini stimüle ederler. Bu antijenler replikasyon için oldukça önemlidir. Virüsün replikasyonu konak hücrenin çoğalmasına bağlı olduğundan hücrenin sürekli S fazında tutulması gereklidir. T antijenleri bu görevi üstlenmekte, hücre döngüsünü kontrol eden önemli proteinlere (p53, pRb vb.) bağlanıp onları inaktive ederek hücreyi S fazında tutmaktadır. Büyük T antijeni Rb ve p53 tümör supresör proteinlerine bağlanarak hücre ölümünü engeller.

Polyomavirüsler tarafından sentezlenen bu erken proteinler, tümör antijenleri olarak bilinmektedir. Bunlardan 97.000 dalton molekül ağırlıklı büyük T antijen çekirdeğe ve 17.000 dalton molekül ağırlıklı küçük t antijen sitoplazma veya çekirdeğe bağlanmaktadır. Büyük T ve orta t antijenlerinin viral replikasyonun yanı sıra transformasyondan da sorumlu oldukları düşünülmektedir.

◆ **Geç viral gen bölgesi (LVGR):** Virüs DNA'sının replikasyonu başladıktan sonra virüs transkripsiyona uğrar. Çekirdekte toplanıp hücre lizisi ile yaklaşık 10.000 ile 100.000 virionun serbest kaldığı, VP1, VP2 ve VP3 olarak adlandırılan kapsid proteinlerini ve düzenleyici role sahip agnoproteinlerini kodlar.

VP1 virüsün glikoprotein yapıdaki hücre reseptörüne tutunmasını sağlayan ve hemaglutinasyondan sorumlu bir dış proteindir. Enfeksiyon ve hemaglutinasyon anti-VP1 antikoları ile inhibe edilmektedir [29].

Kapsidin dış kabuğu, içteki VP2 ve VP3'ün etrafına simetrik olarak dizilmiş beş VP1 molekülü içeren 72 kapsomerden oluşmaktadır [1]. VP2 ve VP3 ise viral genomla ilişkide olan iç proteinlerdir. Viral üniteler çekirdekte bir araya gelir ve virüs hücreden ayrılır [29].

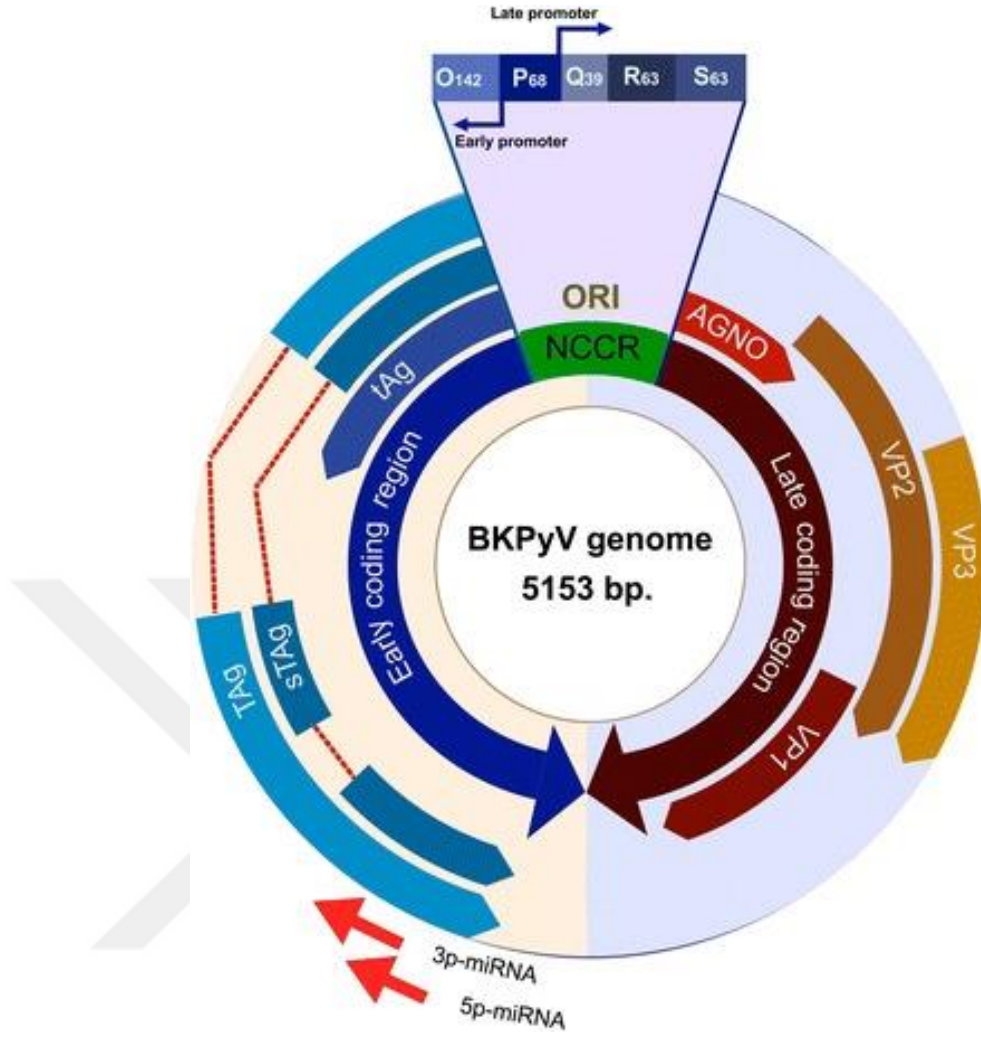
VP2 ve VP3'ün, VP1'in stoplazmadan nükleusa taşınmasına ve virüslerin genomik nükleotidlerle birleşmesiyle virionun bir araya gelmesine yardımcı olduğuna inanılır [27].

Küçük sitoplazmik bir protein olan agnoprotein esas olarak litik enfeksiyonla ilişkilidir. Ve aynı zamanda virion olgunlaşmasında rol oynar. Hücre döngüsünün regülasyonunu bozarak transformasyona yardımcı olur [30].

Ana kapsid proteini olan VP1 asıl olarak virüsün hücrelere bağlanmasından sorumludur. VP1 immunojenitesi oldukça yüksek bir proteindir. Nötralize edici antikorun hedefidir ve virüsün tutunması, eritrositlerin hemaglutinasyonu için gereklidir. VP1 antijenik çeşitlilikten sorumlu olan nükleotidleri içermektedir.

Minör kapsid proteinleri olan VP2 ve VP3 üzerinde bulunan nükleer lokalizasyon sinyalleri virüsün çekirdeğe geçişini kolaylaştırmaktadır. Bu proteinlerin özellikleri; virüsün hücre dışında stabilize edilmesi ve hücre içine girişinin kolaylaştırılmasıdır.

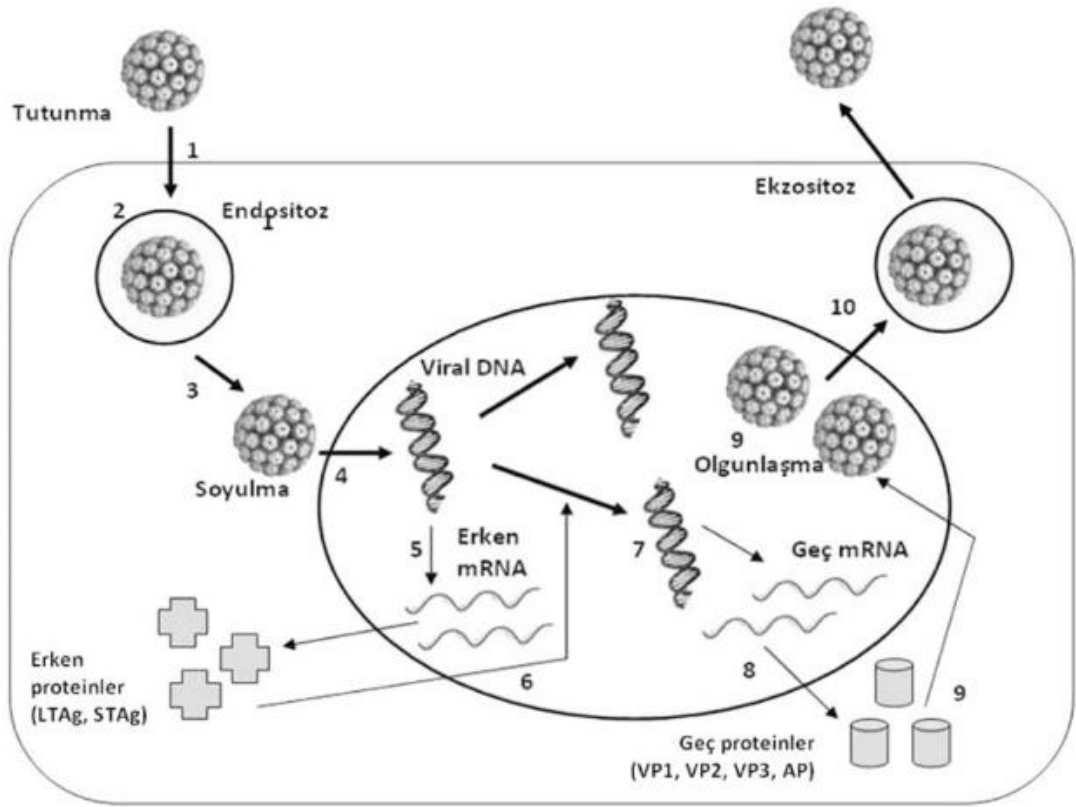
◆ **Kodlama yapmayan kontrol bölgesi (NCCR):** Erken ve geç gen bölgeyi ayıran, çeşitli bağlanma bölgeleri içeren ve değişken özelliğe sahip bir bölgedir (Şekil 3). Erken ve geç genlerin replikasyon orijinlerini (ori), erken ve geç genlerin çift taraflı promoter elemanlarını ve konak hücre transkripsiyon faktörlerinin ve büyük T antijenin bağlanma bölgelerini içerir [3]. Bu bölge çeşitlilikten ve virülanstan sorumludur. Replikasyon ve transkripsiyonun regülasyonunu sağlar.



Şekil 3: BKV genomunun şematik yapısı [28].

2.4. BKV Virüsün Yaşam Döngüsü

Persistan veya litik enfeksiyon yoluyla hastalığa sebep olan BKV, çoğalması için uygun bir konak hücrelerine alınmalıdır. Bunlar vücutta farklı doku veya organlarda bulunan çeşitli hücreler olabilir. Replikasyon ve reaktivasyon esas olarak böbrek ve üriner traktusta görülmektedir.



Şekil 4: Polyomavirüslerin replikasyon döngüsü [9].

BK virüsü hücre membranındaki glikoproteinlere N-bağı ile bağlı α 2-3 sialik asite bağlanır. Terminal α 2-8 bağıyla bağlı siyalik asit kalıntısı taşıyan GD1b ve GT1b gangliozidlerinin de böbrek hücrelerine girişte rol oynadığı bildirilmiştir [31]. Virüsün reseptöre tutunmasındaki majör kapsid proteini VP1'dir. VP1'in hücre yüzeyine bağlanmasının ardından BKV hücreye kaveola aracılı endositozla girer [32]. Kaveola, hücre yüzeyinde bulunan, kaveolin proteini içeren, kolesterol ve sfingolipid bakımından zengin, cep şeklinde bir yapıdır. Virüsün reseptöre bağlanması sonrasında hücrede, tirozin kinaz aktivasyonu, aktin iskeleti depolimerizasyonu ve bağlanma bölgesi çevresinde dinamin yığılması sonrasında kaveola yapısı virüsü çevreler ve oluşan kaveozom hücre membranından ayrılarak sitoplazmaya geçer [33].

Hücre içine alınan BKV mikrotübüller aracılığı ile endoplazmik retikulumla taşınır (Şekil 4) [34]. Endoplazmik retikulum yoluyla taşınmanın en önemli avantajı kapsidin soyulmasını kolaylaştıran şaperonları, disülfid izomerazları ve redüktazları kendi içerisinde içermesidir. Ayrıca virionun nükleusa ulaşabilmesi için gerekli etkileşimler ve konformasyonel değişiklikler de endoplazmik retikulumda gerçekleşir

[35]. Dış kapsidin soyulması ile VP2 ve VP3 proteinleri açığa çıkar ve viral DNA'nın nükleusa taşınmasını sağlarlar. Nükleusta replikasyon başlar.

Erken kodlama bölgesi viral yaşam döngüsünü düzenlese de; BKV replikasyonu erken genlerin fonksiyonları dışında büyük oranda konak hücreye de bağlıdır. İlk olarak viral DNA'dan önce erken mRNA transkripsiyonu olur. Erken mRNA'lar sitoplazmaya geçerek erken proteinlerin yani LT antijen, st antijen ve trunka tümör antijeni (Trunc-Tag)'nin sentezini gerçekleştirir. Sonrasında erken proteinler çekirdeğe döner ve çok sayıda LT antijen molekülleri kompleks oluşturarak NCCR bölgesine bağlanır. Bu kompleks helikaz enzimi gibi özellik göstererek DNA'nın açılmasına ve replikasyonun başlamasına neden olur. LT antijeni retinablastoma (RB) tümör baskılayıcı protein ailesinin (pRb, p107, p130) üyelerine bağlanarak konakçı hücreyi hücre döngüsünün S fazına yönlendiren önemli bir düzenleyici moleküldür. Ayrıca p53'e bağlanarak da apoptozu önler. Ardından saat yönünde geç bölge genlerinin transkripsiyonu başlar. Aynı zamanda yapısal proteinler olan kapsid proteinleri VP1, VP2 ve VP3'ün translasyonu sitoplazmada olur ve agnoproteinin yardımıyla nükleusa taşınırlar ve replike olmuş viral DNA'larla bir araya gelirler [36, 37]. Genomun paketlenmesi ve virion oluşumu çekirdekte gerçekleşir. Bu evrede viral partiküller nükleusta elektron mikroskobu ile kristal benzeri yapılar olarak görülürken, ışık mikroskobunda nükleer inklüzyon cisimcikleri olarak tanımlanırlar. Bu evrenin prototipi idrarla atılan "decoy hücreleri"dir [38, 39]. Son olarak olgun virüs partikülleri çekirdekten çıkarak veziküller içinde taşınır ve hücre membranında ekzositoz ile salınır (Şekil 4).

2.5. Epidemiyoloji

BK virüs dünya üzerinde oldukça yaygındır ve seroprevalansı %70-90 arasındadır [29]. BKV primer enfeksiyonu çocukluk döneminde özellikle 5-9 yaşlarında olmaktadır. On yaşına kadar çocukların %60-100'ünde BK antikorlarının bulunduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Bu oran yetişkin yaş grubunda %75'e kadar gerilemektedir.

Birçok araştırmaya rağmen virüsün bulaş yolu tümüyle aydınlatılmış değildir. BKV DNA'sının tonsil dokusunda saptanmış olması ve yüksek seropozitiflik oranları, virüsün ana bulaşma yolunun solunum yolu olduğunu düşündürmektedir. Virüs dış

ortam koşullarına oldukça dirençlidir. Kirli sularda BKV DNA'sı saptanmıştır ve toprakta bulunan kirli sular virüsün önemli rezervuarlarından biridir. Bu nedenle fekal-oral bulaşın da olası olduğu düşünülmektedir. Diğer potansiyel bulaş yolları idrar, kan transfüzyonu, plasenta yolu, semen ve organ transplantasyon olası diğer bulaşma yollarıdır [3].

BKV enfeksiyonu endemiktir, sık karşılaşılır, her iki cinsi de etkilemektedir, mevsimsel farklılık göstermediği ve etkilediği toplumun sosyo-ekonomik düzeyi ile ilişkili olmadığı düşünülmektedir [3]. Polyomavirüsler tür spesifik olduğundan, insan polyomavirüslerinin hayvan rezervuarı bulunmayıp insandan insana bulaştığı kabul edilmektedir [2].

Primer enfeksiyon sonrası latent kalan BK virüsü bazı faktörler sonucu geçici asemptomatik reaktivasyona neden olabilir. Bu risk faktörlerinden bazıları; gebelik (özellikle 3. trimestir), yaşlılık, kronik hastalıklar (diyabet, siroz v.b.) , otoimmün hastalıklar, HIV ve immunsupresif tedavidir. Sağlıklı asemptomatik bireylerde virüri %5-20 oranında görülürken reaktivasyon sonrası özellikle immunsupresif bireylerde bu oran %60'a kadar çıkabilir [40]. İmmunsupresyon derecesi ile de virürü oranı artabilir [41]. Ayrıca hamile kadınların %3'ünde ve kanserli hastaların %10'unda BK virürüsüne rastlanılmaktadır.

2.6. Serotipler

Dünyada BK virüs serolojik yöntemler ve genotiplendirme yöntemleri kullanılarak subtiplere ayrılmaktadır. BKV, VP1'in genomik bölgesindeki dizi varyasyonuna dayanarak dört genotip halinde kategorize edilebilir.

Subtip I dünyada %46-82 oranı ile en yaygın görülen subtipdir. Subtip I dört alt gruba ayrılmaktadır (Ia, Ib-1, Ib-2 ve Ic). Altgrup Ia; Afrika'da daha yaygın görülmektedir. Altgrup Ib-1; Amerika, Avrupa, Japonya, Çin ve Güneydoğu Asya'da görülür. Ib-2 ise Avrupa ve Kuzeydoğu Asya'da görülmektedir. Subtip II ve subtip III sırasıyla %0.6 ve %0.9 oranları ile en nadir görülen serotiplerdir. Subtip IV ise IVa-1, IVa-2, IVb-1, IVb-2, IVc-1 ve IVc-2 olmak üzere 6 alt gruba ayrılmaktadır. Bu alt grupların çoğu Kuzeydoğu Asya ve Avrupa'da görülen IVc-2 hariç Doğu Asya bölgelerinde bulunmaktadır [42]. Subtip IV esas olarak Doğu Asya'da yaygın bir

şekilde tespit edildiği için bu subtipin Doğu Asya'dan geldiği düşünülmektedir (Tablo 1) [43].

Tablo 1: BKV serotip I ve IV'ün popülasyonlar arası dağılımı [43].

Subtip	Subgrup	Birincil derecede yaygın olduğu insan popülasyonları
I	Ia	Afrika (Batı Asya)
	Ib1	Güneydoğu Asya (Güney Çin)
	Ib2	Avrupa, Batı Asya
	Ic	Kuzeydoğu Asya
IV	IVa1	Güneydoğu Asya (Güney Çin)
	IVa2	Güneydoğu Asya (Güney Çin)
	IVb1	Japonlar
	IVb2	Koreliler, Japonlar
	IVc1	Çin (Moğolistan, Güneydoğu Asya)
	IVc2	Avrupa, Moğolistan

2.7. Patogenez

BKV primer enfeksiyonu çocukluk çağında genellikle hafif solunum yolu enfeksiyonu veya ateş gibi belirtiler gösterir. Çoğu zaman ise hastalık asemptomatik olarak geçirilir. Sonrasında virüs üriner sisteme geçerek burada latent kalır. Bu latent enfeksiyonun kontrolü CD4 ve CD8 T hücre bağıışıklığına bağlıdır. İmmün sistemi sağlam konakta klinik tabloya yol açmadan sadece virürüye sebep olabilir. Asemptomatik BKV virüri vakalarının çoğu nefropati ve hemorajik sistit ile ilişkili değildir. Latent BKV'nin klinik gösteren reaktivasyonu HIV enfeksiyonu veya transplantasyon gibi bağıışıklığı baskılanmış bireylerde ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple BKV patogenezini, konağın yatkınlığı, hedef organ hasarı ve immünsüpresyon derecesini de içeren birkaç faktörün sonucudur.

Virüs solunum yolu ile girer ve diğer organlara kan yolu ile ulaşır. Lenfositler virüsün latent kaldığı ikinci bölgelerdir. Diğer latent enfeksiyon bölgeleri; kalp, akciğer, tonsiller, dalak ve lenf nodlarıdır. BK virüs DNA'sı ayrıca; beyin, karaciğer, mide, paratiroid bezi, periferik kan mononükleer hücreleri, mesane, rahim ağzı, vulva, prostat, dudaklar ve dil gibi normal dokularda da tespit edilmiştir. Viral genom plazmid halinde ya da konak hücre genomuna integre halde kalabilir, bu sayede immün temizlenmeden kaçabilir. Hücresel immün sistemdeki yetersizlik grafitta aktif viral replikasyonun başlamasına neden olur, bunu idrarda virüsün bulunması ve viremi takip

eder. Ayrıca sporadik BK virüs reaktivasyonları konjenital immün yetmezlikli veya HIV gibi sekonder immün yetmezlikli hastalarda görülebilir.

BK virüsünün replikasyonu ve hastalık oluşturmaları için immünsüpresyonun derecesinin, önemli bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir. Hatta BKV replikasyonunun, aşırı immünsüpresyonun bir göstergesi olarak kabul edilebileceği söylenmiştir [44]. İmmünsüpresyonda kontrolsüz virüs replikasyonu, lokal hasarın boyutu ve süresi, komşu hücrelere yayılması ve kan dolaşımına geçmesi hastalığın yayılması için kritik aşamalarıdır.

Enfeksiyon sırasında viremi ile ürogenital sisteme geçen virüs, tübüler epitel hücrelerinde latent döneme girer. Çoğu zaman kollektör tüplerin epitel hücrelerini, renal kaliks ve renal pelvisin tübüler epitelini etkiler. Bazal membranda nekroz ve litik destruksiyon yaparak tübüler sıvının interstisyel alana geçip, burada birikerek interstisyel fibrozis ve tübüler atrofi yapmasına neden olur [45]. Primer enfeksiyon sırasında diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi humoral immün yanıt ortaya çıkar. Akut dönemde IgM ve IgA antikoru oluşmaktadır. Yüksek antikor titreleri virüsün reaktivasyonunu ve idrarla salınımını önleyememektedir. Alıcının ileri yaşta ve yüksek BKV IgG seviyelerine sahip olması transplantasyon sonrası BKV reaktivasyon riskini arttırmaktadır [46].

BK virüs enfeksiyonu için risk faktörlerini özetlersek [2, 3, 37]:

- Kişinin immün durumu, yaşlılık, kanser, komorbid hastalıklar
- Sekonder immün yetmezlik; hücrel immün yetmezlik viral replikasyonun başlamasına neden olabilir.
- HIV regüler proteini (tat) JC virüs transkripsiyonu artırır, bu da HIV pozitif hastalarda neden BK virüs sıklığının yüksek olduğunu açıklayabilir.
- Transplantasyon yapılacak hastanın HLA uyumsuzluk derecesi, erkek cinsiyet, beyaz etnik köken
- Transplantasyon sonrası doku hasarı/ hücrel rejenerasyon; Bu, aynı derecede immünsüpresyon altında olmasına rağmen nakil edilen organ dışındaki organların neden BK virüs tarafından etkilenmediğini açıklayabilir.

- İmmünsüpresif tedavi ve tipi; İmmün disfonksiyona ek olarak immünsüpresif tedavi virülan mutantların gelişimini kolaylaştırarak BKV enfeksiyonu riskini artırabilir.
- Seronegatif olmak; viremiye ve BKV nefropatisi gelişimine zemin hazırlar.

2.8. İmmün Yanıt

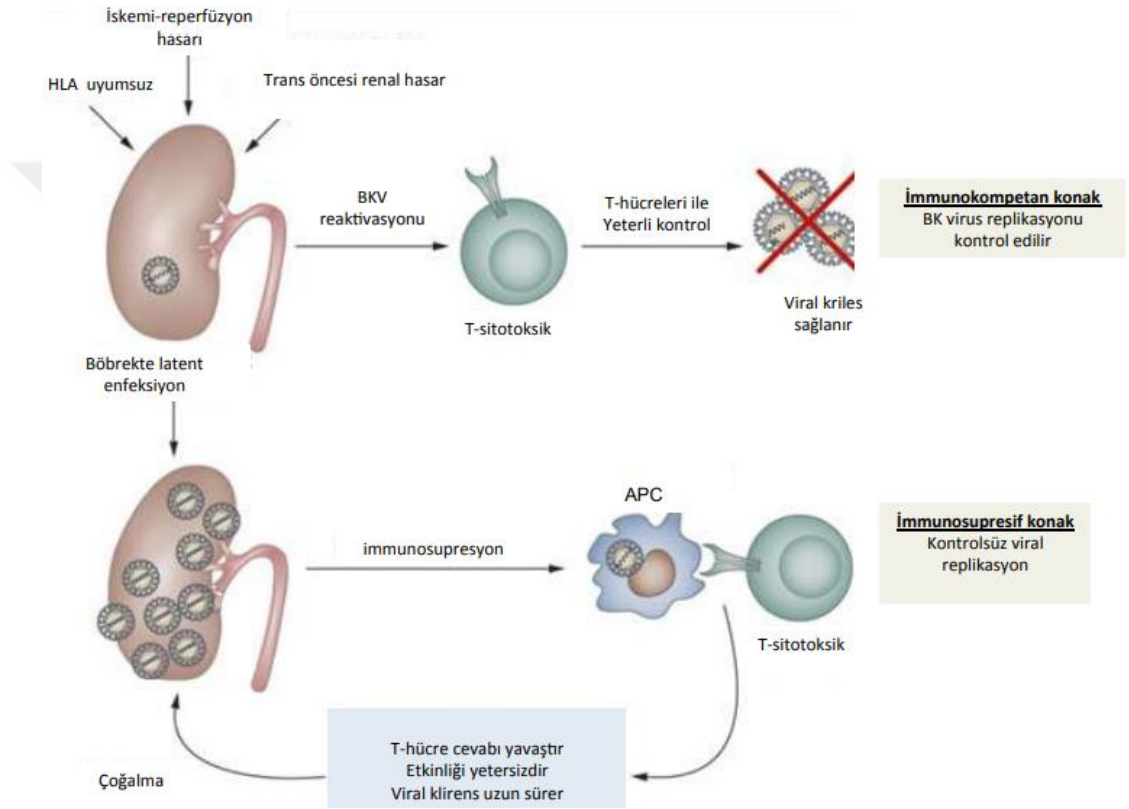
Doğal bağışıklık, primer enfeksiyonun kontrolünde büyük önem taşımaktadır. Doğal bağışıklığın elemanlarından biri olan defensinler, enfeksiyon etkenlerine karşı antimikrobiyal etkili küçük peptidlerdir. Bu peptidlerden insan alfa defensin 5 (HD5) ürogenital yolda bulunmaktadır. HD5'in BKV ile doğrudan ilişki kurduğu ve viriyonlarda agregasyona yol açarak hücreyle bağlantı kurmalarını önlediği gösterilmiştir [47].

BKV gibi birçok virüs, replikasyon sürecinde hücre içinde çift iplikli RNA (dsRNA) yapısı oluşturur. Oluşan dsRNA yapıları, Toll benzeri reseptör 3 (TLR3) ve retinoik asit indüklenebilir gen I (RIG-I) tarafından algılanarak proinflamatuvar sitokin ve kemokin ekspresyonunun gerçekleşmesini sağlar [48].

Doğal bağışıklıkta yer alan diğer savunma elemanı natural killer (NK) hücreleridir. BKV'nin bir diğer bağışıklıktan kaçış stratejisi NK hücrelerinin tanınmasının inhibisyonunu sağlamaktır. BKV'nin NK hücreleri üzerinde NKG2D reseptörü tarafından tanınan strese bağlı ligand ULBP3'ün ekspresyonunu baskılayabildiği ve böylece NK hücresi aracılı sitotoksiteden kaçınan miRNA'lar ürettiği gösterilmiştir [49].

BKV enfeksiyonunun kontrolünde en önemli rolü özgül T hücre yanıtı üstlenmektedir. T hücre yanıtı, BKV'nin yapısal proteinleri VP1, VP2 ve VP3 ile büyük T antijenine karşı gelişmektedir. CD8 T hücreleri ağırlıklı olarak LT antijenine spesifik olduğu ve CD4 T hücrelerinin VP1'e spesifik olduğu düşünülmektedir. VP3'ünse hem CD4 hem de CD8 hücrelerinin hedefi olduğu düşünülmektedir. Son çalışmalarda, CD4 hücrelerinin, gamma interferon (IFN- γ) ve tümör nekroz faktörü (TNF) dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu ve sitolitik ekspresyon yoluyla aracılık ederek BKV enfeksiyonunu kontrol etmede doğrudan bir role sahip olduğu gösterilmiştir [50]. Böbrek transplantasyonu yapılmış hastalarda erken dönemde oluşan, özellikle büyük T antijenine özgül sitotoksik T hücre yanıtının

BKV virüsü ve viremisinin gelişmesini önlediği bildirilmiştir [51]. Sitotoksik T lenfosit yanıtının yetersiz kalması durumunda tam virüs eliminasyonu elde edilemez, kronik BKV replikasyonu greftte yoğun inflamasyona neden olur. Aktive olan T hücreleri greftteki inflamasyon alanına göç ederler. Burada hücreler viral replikasyonu kontrol etmekten çok BKV peptidleri veya donör MHC antijenlerini eksprese eden greft hücrelerine saldırırlar. Oluşan doku hasarı sonucu BKV replikasyonu ve inflamasyon daha da artarak BKVN'ye neden olur (Şekil 5) [52].



Şekil 5: BK virüs nefropatisi oluşumu [52].

Humoral immün yanıtta, BKV'nin VP1 proteinine karşı oluşan nötralizan antikorların primer enfeksiyonda virüsün yayılımını önleyebildiği bildirilmiştir [50]. Ancak transplantasyon öncesinde BKV seropozitifliği, reaktivasyona ve sonrasında gelişen hastalıklara karşı koruma sağlamamaktadır. Bununla birlikte seronegatiflik durumunun BKV viremi ve BKV nefropatisi gelişiminde bir risk faktörü olduğu ifade eden çalışmalar mevcuttur [53].

2.9. Klinik

BK virüsü ile oluşan primer enfeksiyon genellikle asemptomatik geçer. Primer enfeksiyonu geçiren çocuklarda nadiren ateş ve belirgin olmayan akut üst solunum yolu semptomları görülebilir. Bazen vakaya akut sistit eşlik edebilir. İmmunkompetan çocuk ve erişkinlerde primer enfeksiyon sırasında nadiren virüri veya viremi görülebilmekle birlikte enfeksiyon sonrası seropozitif kişilerin idrarlarında virüs genellikle saptanmayabilir. Akut enfeksiyon sonrası latent olarak kalan virüs sağlıklı insanlarda yaşam boyu semptomsuz olarak devam eder [1]. BKV kısmi veya mutlak immün yetmezlik sırasında latent enfekte kişilerde yeniden aktif hale gelebilir. Semptomsuz virüriden, şiddetli ya da ölümcül bir hastalığa kadar değişik tablolara neden olabilir [1].

Viral reaktivasyon kişilerde altta yatan bir sebep olmaksızın oluşabilir. Bunun hormonal durumda veya immün sistemin fonksiyonel durumunda değişikliklere bağlı olabileceği düşünülmektedir [36].

Yaşlılık, gebelik ve diabetes mellitus'ta görülen hormonal veya immünolojik değişikliklere bağlı da reaktivasyon görülmektedir. Gebelikte %25'e varan oranlarda virüri saptanmıştır [36].

BKV immunsuprese bireylerde reaktive olduğunda çeşitli ciddi klinik tablolar oluşturmaktadır. En önemlileri renal transplant hastalarında görülen BKV'ye bağlı nefropati ve üreter stenozudur. Ayrıca kemik iliği transplant (KİT) hastalarında görülen geç başlangıçlı hemorajik sistittir. Daha az sıklıkta ise diğer organ transplant hastalarında, sistemik lupus eritematozuslu bireylerde ve AIDS hastalarında reaktivasyona ve hastalığa neden olmaktadır. BKV'nin oluşturduğu klinik tablolar tablo 2'de özetlenmiştir [3].

Tablo 2: BK virüsünün sistemlere göre oluşturduğu hastalıklar [3].

Hedef Organ	Enfeksiyon Şekli	Hastalık
Solunum sistemi	Primer enfeksiyon İmmunsupresyon	Üst solunum yolu enfeksiyonu Pnömoni
Mesane	Primer enfeksiyon İmmunsupresyon (KİT)	Hemorajik sistit Hemorajik sistit
Böbrek	İmmunsupresyon (Renal transplantasyon)	İntertisyel böbrek hastalığı Üreter stenozu Graft kaybı
Santral sinir sistemi	İmmunsupresyon (AIDS)	Menenjit Ensefalit
Göz	İmmunsupresyon	Retinit
Sindirim sistemi	İmmunsupresyon	Kolit
Endotel	İmmunsupresyon	Vaskülit

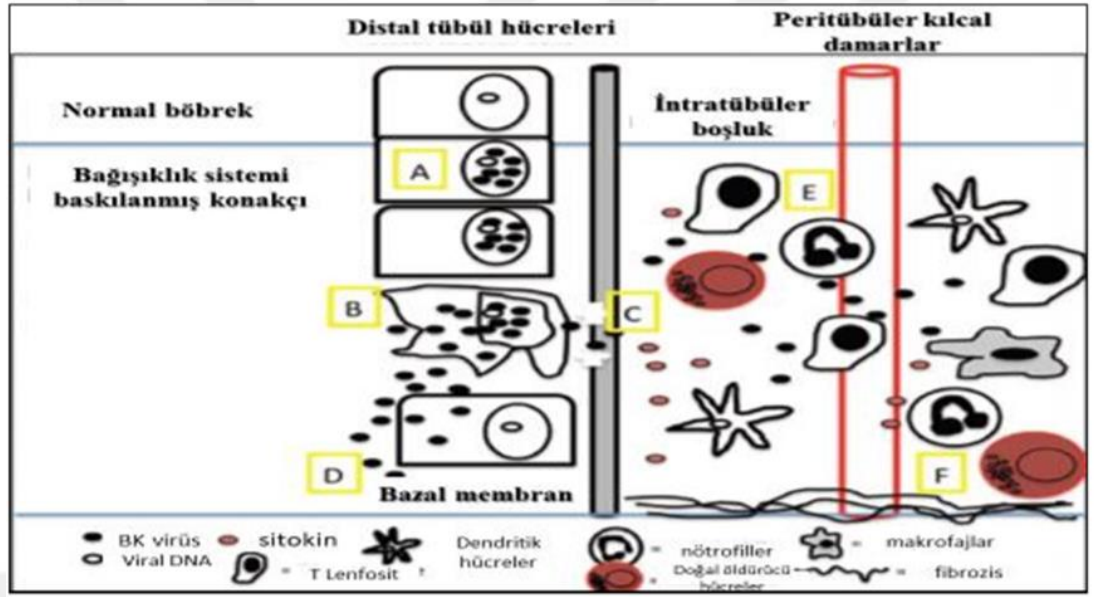
2.10. BK Virüs İlişkili Hastalıklar

2.10.1. Nefropati

BK virüs ilişkili nefropati nativ bir böbrekte nadiren ortaya çıksa da; renal transplant alıcılarında bu oran % 1-10 arasındadır. Çoğu vakada tansplantasyon sonrası 2 yıl içinde gelişen ve yüksek oranda greft kaybı ile sonuçlanabilen bir durumdur [54]. BKV nefropatisine bağlı greft kaybı günümüzde CMV enfeksiyonuna göre 10 kat daha fazla görülmektedir [2].

Renal transplantasyon sonrası vakaların yaklaşık yarısında nakil sonrası ilk 3 ayda virüri gözlenir. Yüksek virüri düzeyi görülenlerin % 10-15'inde ortalama 4 hafta içinde viremi görülür ve 12 hafta sonrasında bu durum nefropatiye dönüşebilir. Posttransplat ikinci ve altıncı aylar arasında nefropati insidansı en yüksektir. BKV'ye bağlı nefropati tablosu oluşan hastaların %1-10'unda da greft kaybı meydana gelir.

BK virüs medulladaki epitelyal hücrelerde yerleşir. Baskın virüs replikasyona başladığında renal kortekse doğru ilerler ve bu ilerleme karakteristik proksimal tübül hasarına neden olur. Viral parçacıklar hücre nekrozu ile serbest kalır ve yeni tübüler hücrelere girer, nükleuslarına geçer. Serum kreatininde artış, sadece replikasyon kortekse ve proksimal tübüle ilerlemişse görülür. Allograft disfonksiyonu tübül hasarının göstergesidir. Eğer proksimal tübülde nekroz devam ederse disfonksiyon geri dönüşümsüz olur. Tedavisiz olgularda bu greftlerin % 45'i kaybedilir (Şekil 6).



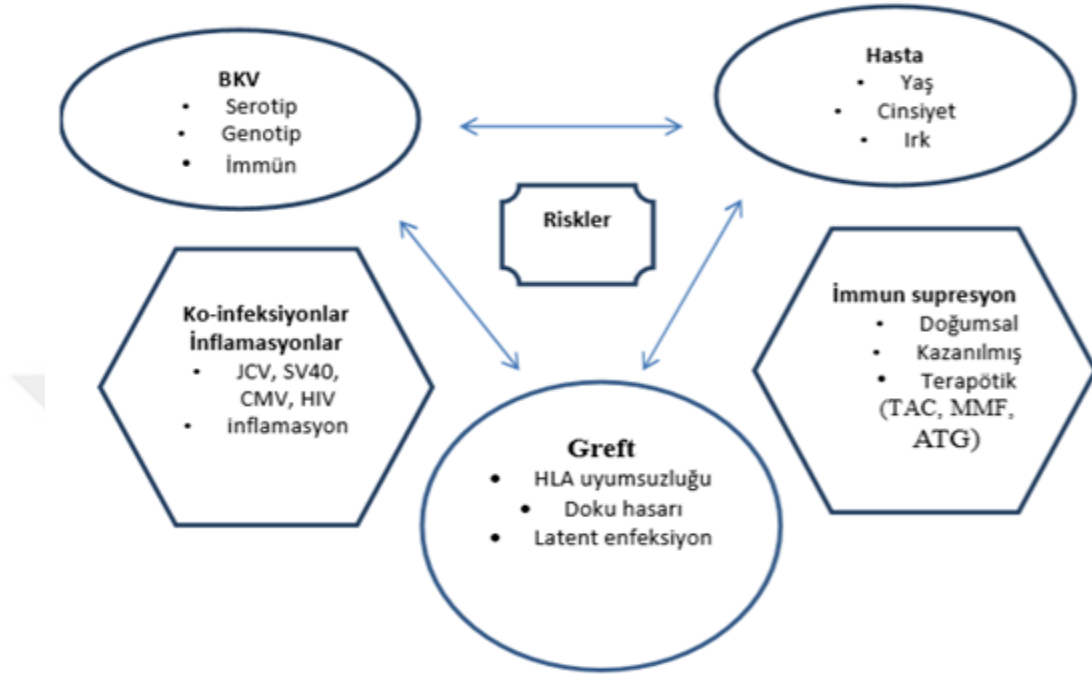
Şekil 6: BK virüsün patofizyolojisi ve BKVN gelişimi. İmmun sistemi baskılanmış konakçılarda virüsün reaktivasyonu (A). Hücre nekrozu (B) ve lokal hasar ve iltihabın başlaması. Bazal membran yapısının bozulması (C) intratübüler boşluğun ardından peritübüler kılcak damarların enfeksiyonu virüri ile sonuçlanır. Devam eden viral dağılım (D) viremi ve nefropatiye (E) neden olan sitokin salınımı, iltihaplanma ve hücre hasarı döngüsüne yol açar. Tekrarlayan hücre hasarı, fibroze yol açabilir.

BK virüs nefropatisi (BKVN)'nin oluşumundan pek çok risk faktörü sorumlu tutulmuştur. Transplantasyon sonrasında uygulanan immunsupresyon BKVN oluşumunda temel risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Akut rejeksiyon oranlarını azaltmak için kullanılan bu ilaçların; lenfositlerde nükleik asit sentezini inhibe etmek ve T hücre aktivasyonu için gerekli olan sitokin genlerinin aktivasyonunu engellemek gibi bazı yan etkileri mevcuttur. Nefropati oluşumunda spesifik bir immunsupresif bir ilaçtan çok, oluşan immunsupresyon düzeyinin etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca BKVN'nin kodlama yapmayan kontrol bölgesindeki düzenlenmeler başta olmak üzere, virüsün genetik faktörlerinin de etkili olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda NCCR bölgesinde veya VP kapsidinde oluşan mutasyonların BKV'nin virülansını arttırabileceği bildirilmiştir [55, 56].

BK virüs nadir olarak nativ böbrekte de nefropatiye neden olabilmektedir. Özellikle hematolojik malignitesi olan hastalarda bu duruma rastlanabilir. Onun

dışında kemik iliği transplant hastalarında, akciğer-kalp transplant hastalarında ve HIV ile enfekte kişilerde görülebilir [57].

BKVN'ye ilişkin risk faktörlerinden bazıları Şekil 7'de özetlenmiştir.



Şekil 7: BKV nefropatisiyle ilişkili risk faktörleri [39].

2.10.2. Üreteral Darlık

Renal transplantasyon sonrası BKV'e bağlı üreteral stenoz insidansı % 3, genel transplant hastalarında ise % 0,5-6 arasındadır. Nakil sonrası aylar ya da yıllar sonra görülebilir. Üreteral stenoz gelişen renal transplant hastalarında, transplante edilen böbreğin innervasyonu olmadığı için bu hastalarda genellikle ağrı ve rahatsızlık hissi olmaz. Ayrıca üriner obstrüksiyon ortaya çıktığında buna bağlı kreatinin düzeylerinde artış görülür [45].

2.10.3. Hemorajik Sistit

Hemorajik sistit; dizüri, sık idrar yapma, sıkışma hissi, suprapubik hassasiyet ve değişen derecelerde hematüri semptomları ile karakterize bir hastalık olup ciddi durumlarda, belirgin kanama ve pıhtı oluşumu, idrar yolu tıkanıklığı, şiddetli ağrı, kontrol edilemeyen kanama ve akut böbrek yetmezliğine neden olabilir.

Hemorajik sistit BK virüs ile ilişkili en yaygın komplikasyondur. En sık kemik iliği transplant alıcılarında görülür. Bu hastaların yoğun kemoterapi rejimleri immünsüpresyona ve mesane mukozasında hasara neden olur. Yüksek BKV replikasyonu hasar görmüş olan mukoza tabakasında soyulmaya neden olur ve sonucunda bu bölgede inflamasyon gelişir. Viral yük artar ve BK virüsün sitopatik etkisi ile birlikte hematüri meydana gelir. Hastaların yaklaşık % 50'sinde transplantasyon sonrası 2 ay içinde yüksek viral yük ($>10^7$ kopya/ml) saptanır ve bunların yaklaşık % 20'sinde hemorajik sistit gelişir.

2.10.4. Kanser

BKV'nin kansere neden olduğuna dair elimizde kesin veriler bulunmamaktadır fakat çeşitli çalışmalar farklı hipotezler öne sürmüştür. Tümör gelişiminde, erken ve geç gen ekspresyonunda gerçekleşen dengesizlik büyük rol oynadığı düşünülmektedir. Erken gen ekspresyonunda artışla birlikte ortamda büyük T antijeninin birikmesi, bu süreçte etkili olmaktadır. LT antijen ve st antijenin ekspresyonunun onkojenik olabileceği öne sürülmüştür. LT antijen ve st antijenin, hücre çoğalmasına neden olan, p53 ve pRb gibi tümör baskılayıcı proteinleri inaktive edebilme kabiliyetleri nedeniyle proonkojenik oldukları bilinmektedir.

Virüsün litik infeksiyona yol açması, insanda tümör gelişiminden koruyucu bir özellik olarak değerlendirilebilir. Ancak immün sistemi baskılanmış hastaların, yüksek düzeyde görülen virüs replikasyonu nedeniyle erken ve geç gen ekspresyonunda uyumsuzluk riskiyle karşı karşıya oldukları düşünülebilir [58].

İnsanda beyin tümörü, kolorektal tümör, adenokarsinom, pankreas kanseri, prostat kanseri ve mesane kanseri olgularında saptanan BKV DNA'sı nedeniyle virüsün kanser oluşumu ile ilişkisi olabileceği öne sürülmüştür fakat elimizde kesin bir veri bulunmamaktadır. Bunlar öne sürülerek insanlarda “kanıt yetersizliği” ve deney hayvanı modellerinde ise “yeterli kanıt” olmasına dayanarak Dünya Sağlık Örgütü'nün Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Monograf Çalışma Grubu yakın zamanda BKV'yi “insanlarda olası karsinojen” (grup 2B) olarak sınıflandırmışlardır [59].

2.10.5. Diğer Klinik Bulgular

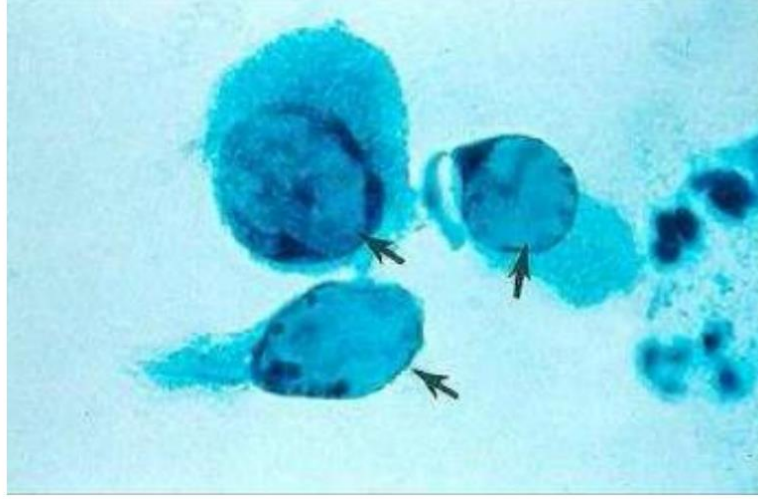
İmmün yetmezliği olan hastaların merkezi sinir sistemi ile ilgili klinik durumlarda, BK virüs tutulumu ile ilgili bazı vaka raporları bulunmaktadır. BKV ile ilişkili merkezi sinir sistemi enfeksiyonları ağırlıklı olarak kemik iliği transplant alıcılarında veya HIV enfeksiyonu da dahil olmak üzere altta yatan bir immün yetmezliği veya komorbid hastalığı olan hastalarda görülür. İlk bildirilen olgu; hemofili tip 2 ve AIDS’li, subakut meningoensefalit gelişen ve daha sonra ölen bir erkek hastadır. Santral sinir sistemi ve beyin omurilik sıvısı örneklerinde BKV DNA’sı, böbrek ve akciğerlerinde ise BK virüsü düşündüren hücreler bulunmuştur [60]. Bu hastalarda klinik belirtiler arasında baş ağrısı, konfüzyon, ataksi, baş dönmesi, parapleji ve nöbetler bulunur [61].

2.11. Tanı

BK virüs enfeksiyonlarının genellikle asemptomatik veya spesifik olmayan belirtilerle seyretmesi nedeniyle, klinik tanı konulması pek mümkün değildir. Tanı genellikle sitolojik inceleme, biyopsi ve/veya moleküler yöntemlerle konulmaktadır.

2.11.1. Sitolojik İnceleme

BKVN’nin histolojik olarak karakteristik özelliği epitelde inklüzyon cisimleri ve epitelyal nekrozdur (sitopatik etki). En çok etkilenen hücre grubu renal tübüler epitel hücreleridir. Daha az olarak da Bowman boşluğundaki parietal hücreler etkilenir. Etkilenen hücrelerin hacimleri artar, nekrotik hale gelirler ve tübüler lümenine dökülürler. Bu aşamada ürotelyal hücrelerde BK virüsünü saptamak için sıkça kullanılan bir yöntem olarak idrarın sitopatolojik incelemesi yapılır. İdrar sedimentinden hazırlanan preparatların Papanicalou (PAP), Hemotoksilen Eozin veya Giemsa boyaları ile boyanmasıyla enfekte hücreler, normalden büyük çekirdek yapıları ve çekirdek içi buzlu cam görünümü oluşturan tek, geniş, bazofilik inklüzyon cisimciklerinin varlığı ile tanınırlar. Hücrelerin bu görünümüne “kuş gözü” görünümü denir. Enfekte bu renal tübüler hücreler decoy hücreleri olarak adlandırılır (Resim 1) [29].



Resim 1: Decoy hücreleri.

Decoy hücrelerini, 1950’lerde tanımlayan sitoteknolog Andrew Ricci, idrar sedimentinde saptadığı, büyük, homojen, hiperkromatik nükleuslu hücrelerin, kanser hücrelerine benzer olduğunu, ancak mesane kanseriyle ilişkisi olmadığını bildirmiştir. Kanser hücreleriyle karıştırılabilir özellikte olmaları nedeniyle, Ricci, bu hücrelere, ördek avında kullanılan sahte ördeklerden esinlenerek “decoy” (sahte, aldatıcı) adını vermiştir [62].

Decoy hücreleri BKV replikasyonunun morfolojik belirleyicileridir. Enfekte hücre içermeyen idrar örneğinin sitolojik incelemesinin negatif prediktif değeri %99,4, pozitif prediktif değeri %29 oranıyla oldukça düşüktür [9]. Bu yöntem, travmatik olmaması ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle özellikle transplantasyon sonrası BKV enfeksiyonu gelişme riskinin takibinde yararlıdır. Fakat duyarlılığının düşük olması, polyomavirüs tiplerinin birbirinden ayırt edilememesi ve hücrelerde saptanan inklüzyonların CMV, HSV ve adenovirüs gibi diğer virüslere ait olma olasılığı gibi bazı dezavantajları mevcuttur (Tablo 3).

Tablo 3: İdrarın sitolojik incelemesinin etkenlere göre değerlendirilmesi [63].

	Polyomavirus Sitomegalovirus Adenovirus		
Viral inklüzyonlar			
Epitel hücreler	+++	+++	+++
Endotel hücreler	-	++	-
Mononükleer hücreler	-	+	+/-
İnklüzyon tipi			
Buzlucam	++	+	++
Baykuş gözü	+, eksik halo	+++ , tam halo	+
Granüler/düzensiz*	+	-/+	-/+
Sitoplazmik	-	+	-
Sitoplazmik dejenerasyon	++	+/-	+/-
Arkaplan			
Nekroz	-/+	+/-	+++
İnflamatuvar hücreler	-/+	+	+++
Hemoraji	-/+	-/+	+

*Özgül değil, tübüler hasar ve rejenerasyonda görülmektedir.

2.11.2. Serolojik Testler

Polyomavirüs serolojisinde hemaglutinasyon inhibisyon, immunfloresan antikor ve enzyim immünassay (EIA) yöntemleri kullanılmıştır.

İdrarda direk floresan antikor yöntemi ile antijen saptanması mümkün olmakla birlikte rutin uygulama için pratik değildir. BKV antijenlerinin (VP1 ve agnoprotein) tespitinde poliklonal serumlar denenmiştir. BKV büyük T antijenini tanıyan monoklonal antikorlar böbrek biyopsi örneklerinde virüs tespiti için kullanılmıştır [1].

Tekrarlanabilirliği ve yüksek hassaslığı nedeniyle enzim immünassay'ler (EIA) BKV'ye karşı oluşan antikorların tespitinde hemaglutinasyon inhibisyon testlerinin yerini büyük ölçüde almıştır.

Serolojik tanı; toplumlarda yüksek seropozitifliğin olması, reaktivasyon sırasında IgM kinetiğinin değişken olması ve reaktivasyonların genellikle asemptomatik seyretmesi gibi nedenlerden dolayı çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. Ayrıca immün suprese veya HIV ile enfekte hastalarda BKV spesifik antikorların düşük düzeyde olması ya da yaşla birlikte azalması da sonuçların yorumlanmasında güçlük yaratabilir [64]. Bununla birlikte seroloji BKV'nin epidemiyolojisinin anlaşılması üzerine önemli bir rol oynamakta ve dünya çapında dağılımı konusunda bilgi sağlamaktadır.

2.11.3. Moleküler Testler

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile idrarda viral DNA'nın kantitatif tahmini en sık kullanılan tanı yöntemidir. İdrarda, kanda ve serebrospinal sıvıda BKV DNA'yı saptamaya yarayan bu nükleik asit testleri, yüksek duyarlık (%100), özgülük (%88) ve negatif prediktif değere (%100) sahiptir [65]. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi, BKV viral yük ölçümü için kullanılan temel teknoloji olarak kabul edilmektedir. Ayrıca kantitasyona imkan sağlaması ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle tanıda en yaygın kullanılan yöntemdir. BKV enfeksiyonunun erken tanısı, nefropatinin önlenmesinde gerekli yaklaşımların uygulanması bakımından büyük önem taşımakta olup moleküler yöntemler bu anlamda önemli rol üstlenmektedir.

BK virürisi, virüs replikasyonunun ilk işaretidir. Sağlıklı kişilerde BKV reaktivasyonu ile asemptomatik virüri, %10'a varan oranlarda gözlenmekte olup düşük düzeyde ($<10^5$ kopya/ml) virüs saptanmaktadır. Virüs replikasyonunun devam etmesiyle BKVN riski artar. Daha önceki çalışmaları baz aldığımızda virürinin BKVN'ye dönüşmesi için idrardaki viral yükün 10^7 kopya/ml eşik değerinin üzerinde olması gerekmektedir. Özellikle böbrek ve kemik iliği transplantasyonu sonrasında gelişen immünsüpresyon nedeniyle gerçekleşen yüksek düzeydeki virüs replikasyonu ile idrarda saptanan BKV yükü 10^7 kopya/ml'nin üzerine ulaşabilmektedir.

BKV'de virüriden ortalama 4 hafta sonra hastaların %30'unda viremi gözlenmektedir. Viremi gözlenen hastaların yaklaşık %60'ında BKVN gelişmektedir. Virüs için plazmada yüksek viral konsantrasyonlar yaygın değildir. Plazmada BKV DNA'sının 10^4 kopya/ml'nin üzerinde saptanması, BKVN için yüksek pozitif prediktif

değere (%50-80) sahiptir. Böbrek transplantasyonu yapılmış hastaların plazma örneklerinde 4 haftadan uzun süre, 10^4 kopya/ml'nin üzerinde BKV saptanması olası BKVN olarak tanımlanmaktadır [66].

Böbrek dışındaki solid organ transplantasyonu alıcılarında BKV virüsünün endojen BKV reaktivasyonu sonucu görülen ve nadir olarak hastalık gelişimi ile sonuçlanan bir durum olduğu ifade edilmektedir [62]. Hematopoetik kök hücre transplantasyonu yapılmış hastaların idrarında 10^7 kopya/ml'nin üzerinde virüs varlığının BKV'ye bağlı hemorajik sistit gelişimi riskinin bir göstergesi olduğu ifade edilmektedir. Plazmadaki BKV viral yükünün 10^4 kopya/ml 'den daha yüksek saptanması ise büyük ölçüde hemorajik sistit gelişimiyle ilişkili bulunmaktadır [67].

2.11.4. Elektron Mikroskopisi

BKV ile enfekte hücreler elektron mikroskopunda ortalama 40 nm çapında, zarfsız virionların intranükleer agregatlar oluşturması şeklinde görülürler. Binlerce virionu içeren intranükleer inklüzyonlar kristal agregatlar oluşturacak şekilde toplanırlar. Bu üç boyutlu agregatlara “haufen” (yığın) adı verilir. Bu yöntemin en büyük avantajı BKV nefropatisi ile asemptomatik BKV replikasyonunu ayırabilmesidir. Diğer bir yararı diğer virüs ailesindeki virüslerin tübüler hücrelerde benzer sitopatik değişikliklere neden olmasına rağmen morfolojik olarak ayırt edilebilmesidir. Fakat elektron mikroskopik inceleme polyomavirüs suşlarını birbirinden ayırt edemez (JCV veya BKV gibi). BKVN tanısında idrarda viral agregatların elektron mikroskopik olarak saptanması %90'ın üzerinde negatif prediktif değere sahiptir. İmmünohistokimyasal testlere ve gerçek zamanlı PCR yöntemine göre daha düşük sensitiviteye sahiptir ve daha pahalı bir yöntemdir. Bu nedenle geniş çaplı bir kullanım alanına sahip değildir [68].

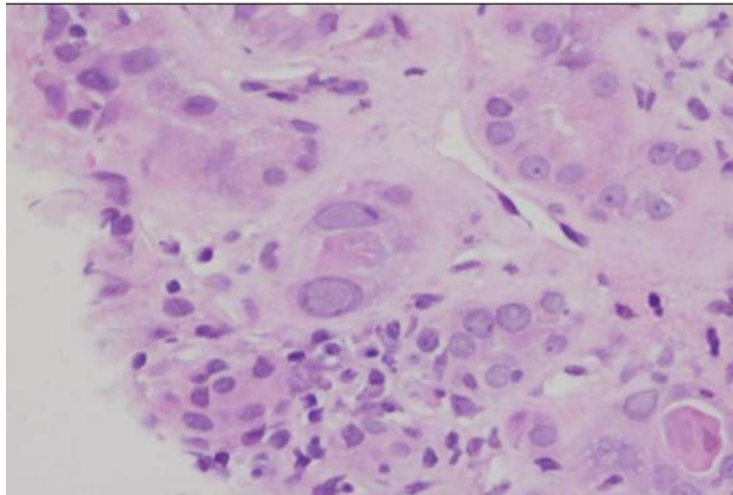
2.11.5. Biyopsi

İnvaziv bir yöntem olmasına rağmen greft disfonksiyonu veya reddi şüphesi varsa, nefropati tanısı için renal biyopsi yapılmaktadır. “Kesin” BKVN tanısı, böbrek dokusundaki sitopatik değişimlerin gösterilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Etkilenen böbrekten alınan biyopsi örneğinin incelemesi, BKVN tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Yüksek özgüllüğe sahiptir ve akut hücresel rejeksiyon, ilaç

toksisitesi, veya altta yatan hastalığın nüksü gibi durumları da tanıyabilme olanağı sağlar.

Bu amaçla immunohistokimyasal ya da in situ hibridizasyon yöntemleri kullanılabilir. İmmunhistokimyasal yöntemde genellikle SV40'ın büyük T antijeni gösterilmekte olup BKV VP1 ya da agnoproteinine özgül boyamalar da yapılabilmektedir [66]. Bu boyama yöntemi sitolojik yaymalarda da problemsiz olarak kullanılabilir. LT antijeni pozitif tek bir hücreyi bile saptamak BKV nefropatisi tanısını koymada yeterlidir. BKVN'de böbrek lezyonları rastgele ve multifokal olduğundan özellikle hastalığın erken döneminde biyopside %30 gibi yanlış negatif sonuçlar alınabilir [53]. Bu nedenle biyopsi için medüller dokuyu içeren en az iki örneğin alınmasını önermektedirler [66]. Bununla birlikte biyopsi invaziv bir işlem olduğundan ve örneklem hatası görülebilmesi nedeniyle işlem genellikle yüksek viremi ($>10^4$ kopya/ml) değerlerine sahip hastalara önerilir.

İlk başta sağlıklı parankim içinde viral inklüzyonlar içeren birkaç hücre olarak gözlenirken, hastalık ilerledikçe enfekte hücre sayısı artar ve tübülo-interstisyel inflamatuvar infiltrasyon oluşur (Resim 2). Hastalığın ilerleyen dönemlerinde atrofi, tübülo-interstisyel fibrosis ve skarlaşma görülür. Bu evrede görülen yüksek düzey viremi bazal membranların rüptürü sonrası virionların dolaşıma geçmesi ile açıklanabilir.



Resim 2: Hemotoksilen eozin boyası ile epitel hücrelerinde karakteristik bazofilik intranükleer inklüzyon cisimleri.

BKVN’de patolojik değişimler üç evrede gözlenmektedir. A evresi, görünür tübülointerstisyel değişimlerin olmadığı erken evre olup bu evrede tübül hücrelerinde intranükleer inklüzyon cisimcikleri saptanmaktadır. B evresinde korteks ve/veya medullada belirgin virüs replikasyonu gözlenir. Bu evre, virüs tarafından indüklenen tübüler nekrozun gerçekleştiği aktif nefropati evresidir. C evresinde korteks ve medullada minimumdan anlamlı düzeylere kadar değişen virüs replikasyonu saptanmaktadır. Bu evre korteksin yarısından fazlasında interstisyel fibrozun görüldüğü geç evredir [69].

2.11.6. Hücre Kültürü

Hücre kültürüyle BKV izolasyonu, spesifik bir yöntem olmasına rağmen rutin tanıda hem pratik olmadığı hem de pahalı olduğu için kullanılmaz. Daha çok araştırmalarda kullanılan bir yöntemdir. Virüs konvansiyonel hücre kültür ortamlarında çok yavaş üremektedir. Fare böbrek hücrelerinde ilk sitopatik etkisi inokülasyondan 18 gün sonra gözlenmiştir. Vero hücre kültürlerinde sitopatik etkinin gözlenmesi ise 1-3 ayı bulmaktadır. BKV için en uygun hücre ortamı olan insan embriyonik böbrek hücrelerinde bile sitopatik etki en erken 5 günde oluşmaktadır. BKV primer tek katmanlı hücre kültürlerinde, insan diploid akciğer fibroblast, insan fetal beyin ve maymun böbrek hücre kültürlerinde üreyerek bu kültürlerdeki hücrelerin yuvarlaklaşp küçülmesine, çekirdeklerinin büyümesine ve hücrelerin tabakadan koparak kültür sıvısına dökülmesine neden olurlar [29].

2.12. Tedavi

BK virüs enfeksiyonunun yönetimi, virüsün temizlenmesine, akut ve kronik reddin önlenmesine ve böbrek fonksiyonunun korunmasına yönelik olmalıdır. BK virüs nefropatisinin güncel tedavisi, henüz etkin antiviral bir ajan bulunamadığından yetersizdir. Enfeksiyonun kontrolü transplant hastalarında immünsüpresyon düzeyini azaltarak gerçekleştirilebilmektedir. Bu tedavi yaklaşımı ise transplantasyon yapılmış hastayı akut greft rejeksiyonu riski ile karşı karşıya getirmektedir. İmmünsüpresyon düzeyini azaltma kararında kullanılacak viral yük eşik değeri ise kesin olmayıp hastanın takip edildiği merkez ve yönteme bağlı olarak belirlenmelidir. İn vitro şartlarda anti viral etkiler gösteren ajanlar olan sitidin analogu sidofovir ve

leflunomidin düşük dozlarının BKVN'ye karşı bir miktar etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. İmmünsüpresyonun azaltılması akut red şüphesi olan hastalarda kontrendikedir ve sidofovir ile kombine edilen leflunomid bu hastalar için tek mümkün tedavi seçeneği olarak görülmektedir. Sidofovir aynı zamanda BKV tarafından oluşturulan hemorajik sistitin de tedavisinde kullanılabilir.

Siprofloksasin gibi kinolon grubu antibiyotikler genellikle daha ucuz olması ve kolay kullanılabilir olması nedeni ile diğer antiviral ajanlar içinde ilk olarak tercih edilebilir. BKV'ye karşı in vitro ve in vivo etkilidirler. Kinolon antibiyotikleri DNA topoizomeraz aktivitesini ve SV40 polyomavirüs büyük T antijen helikazı inhibe ederek işlev görürler. SV40 ve BK T antijeni arasındaki benzerlikten dolayı kinolonların aktif BKV enfeksiyonunda da etkili bir tedavi seçeneği olduğu düşünülmüştür. Sefalosporinler ile karşılaştırıldığında siprofloksasin idrar BK virüs yükünü belirgin olarak azaltır.

İntravenöz immungloblinler (IVIG) BK nefropatisi olan hastalarda immunmodülatör etkisi nedeni ile kullanılırlar. Seropozitif alıcılar veya aktif BKV enfeksiyonu olan alıcılar yüksek oranda BKV spesifik antikor titrelerine sahiptir. Bu durum viral kontrolde antikor aracılı nörolizasyonun çok da etkili olmadığını düşündürmektedir. Bu nedenle IVIG'te bulunan BKV-spesifik antikorun yararı tartışmalıdır. Yine de BKV nefropati ve buna eşlik eden akut rejeksiyon tedavisinde IVIG (2-3.5 g/kg, 2-7 gün) immünsüpresyon azaltılmasına ek olarak verilmektedir. IVIG hem BKV enfeksiyonu, hem de allograft rejeksiyonu tedavisinde etkilidir, bu diğer antivirallere avantaj sağlamaktadır.

Hemorajik sistitin tedavisi semptomatiktir. 50.000 hücre/mm³ üzerindeki trombosit düzeylerini ve %25'ten daha yüksek hematokrit değerlerini korumak için sürekli mesane irrigasyonu, analjezi, hiperhidratasyon, zorlu diürez ve transfüzyonu içerir. Birçok vaka bildiriminde ve retrospektif çalışmalarda intravezikal sidofovir hemorajik sistit tedavisinde kullanılmıştır [70, 71, 72]. Bu madde semptomatik rahatlama sağlayabilir, ancak tedavi ile idrar BKV yükünde kesin bir azalma sağlamaz [73].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Yeri

Bu çalışma İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

3.2. Çalışmada Kullanılan Hasta Numunelerinin Temini

Araştırma grubu için; 01.08.2019 – 01.06.2020 tarihleri arasında İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları polikliniğine başvurmuş HIV pozitif gönüllü hastaların idrar ve kan örnekleri çalışma kapsamına alınmıştır. Kontrol grubu olarak aynı tarihlerde aile hekimi polikliniğine başvuran HIV negatif, bilinen bağışıklık sistemini baskılayacak hastalığı ve ilaç öyküsü olmayan gönüllü hastaların örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir.

3.3. Etik Kurul Onayı

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi İlaç Dışı Klinik araştırmalar Etik Kurulundan 11.07.2019 tarihinde ve 71 numaralı karar numarası ile etik kurul onayı alındı.

3.4. Aydınlatılmış Onam

Hastanemizde 01 Ağustos 2019 tarihinden itibaren ardışık olarak enfeksiyon polikliniğine başvurmuş HIV pozitif hastalar ve aynı zamanda aile hekimliği polikliniğine başvurmuş HIV negatif hastalar BK virüs ve çalışma düzeni hakkında bilgilendirildi ve çalışmaya dahil edilmeden önce her hastaya aydınlatılmış onam formu okutularak imzalandı.

3.5. Proje Desteği

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2019- Tdu-Tıpf-0016 no'lu proje ile desteklenmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 22.0 istatistiksel analiz programı kullanılarak analiz edildi. Örnekleme tanımlamak için frekans dağılımı, ortalama (mean), standart sapma (SS) gibi tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. İstatistiksel analizlerde parametrik test varsayımları sağlanmadığı için, Mann-Whitney U, Wilcoxon ve Kruskal Wallis işaretli testleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı göz önünde bulundurularak ölçümler arası korelasyon Spearman's Rho Test ile değerlendirildi. Analizlerde $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

3.7. Gerekli Malzemeler

3.7.1. Hasta Numularının Toplanması ve Depolanması Sırasında Kullanılanlar

- Steril idrar kabı
- Vakumlu EDTA'lı tüp
- 1.5 ml'lik saydam eppendorf tüpleri
- Santrifüj cihazı
- Pipet ve pipet uçları
- Derin dondurucu (-20°C ve/veya -80°C aralığında)

3.7.2. Serolojik Yöntemlerle BKV IgG Araştırılması İçin Kullanılanlar

- BKV IgG ELISA Kiti (ELISA-VIDITEST anti-BKV IgG kit, Vidia Ltd.)
- 450 nm dalga boyu filtreli mikropilaka okuyucu
- Santrifüj cihazı
- 100-1000 ml'lik otomatik pipet ve tek kullanımlık pipet uçları
- 10- 100 μl 'lik otomatik pipet ve tek kullanımlık pipet uçları
- 2-10 μl 'lik otomatik pipet ve tek kullanımlık pipet uçları
- Deiyonize veya distile su
- Emici kağıt
- Yıkama tamponu için yükleme yuvası

3.7.3. BKV DNA Nükleik Asit İzolasyonu İçin Gerekli Malzemeler

- Viral nükleik asit izolasyon kiti (QIASymphony DSP Virüs/patojen kiti, Qiagen, Almanya)
- QIASymphony SP/AS ekstraksiyon cihazı (Qiagen, Almanya)
- Vorteks
- Örnek tüpleri (polistiren yuvarlak tabanlı tüpler, vidalı veya vidasız tüpler)
- 200 µl ve 150 µl'lik filtre uçları

3.7.4. BKV DNA Nükleik Asit Amplifikasyonu Basamağında Kullanılanlar

- Artus BK Virüs QS-RGQ PCR kiti (Qiagen, Almanya)
- Rotor-Gene QS-RGQ Amplifikasyon cihazı (Qiagen, Almanya)
- Santrifüj cihazı
- Vorteks
- Ayarlanabilir pipetler ve filtreli steril pipet uçları

3.7.5. HIV RNA Nükleik Asit İzolasyonu ve Amplifikasyonu Basamağında Kullanılanlar

- Abbott m2000sp ekstraksiyon cihazı
- Abbott m2000rt amplifikasyon cihazı
- Abbott RealTime HIV-1 Reagent kiti
- Örnek tüpleri
- Santrifüj cihazı
- Vorteks
- Ayarlanabilir pipetler ve filtreli steril pipet uçları

3.8. Yöntem

3.8.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Antikor aramak için gereken kan örnekleri çalışmaya katılan hastalardan toplandı. Listelenen her bir örneğe sıra numarası verildi. Örnekler 4000 devirde 10

1 dakika santrifuj edildikten sonra serum kısmı 1,5 ml'lik steril eppendorflara alındı. Çalışma yapılana kadar serumlar -20°C'de saklandı.

Gerçek zamanlı PCR çalışılmak istenen idrar örnekleri ise; hastalara verilen steril idrar kaplarına, hastaların üretral yolla idrar vermeleri istenerek toplandı. Listelenen her bir örneğe sıra numarası verildi. Örnekler 1,5 ml hacimli steril eppendorflara alınarak çalışma zamanına kadar -20°C'de saklandı.

Toplanan örnekler listelenirken hastaya ait bazı veriler kaydedildi. Bunlar;

- Hastanın adı- soyadı
- Demografik veriler (cinsiyet, yaş)
- HIV tanı yılı
- Aldığı anti-HIV tedavisi
- Komorbid hastalık (diyabet, hipertansiyon, kanser öyküsü, immunsupresif tedavi)
- Transplantasyon öyküsü
- Laboratuvar verileri
 - HIV RNA değeri
 - CD4 sayısı
 - Beyaz küre (WBC) sayısı
 - Lenfosit sayısı
 - Kreatin düzeyi

3.8.2. Serum Örneklerinden Serolojik Yöntemle Antikor Arama

Hastalara ait serum örneklerinden BK virüse ait antikor arama ELISA-VIDITEST anti-BKV IgG kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 3). Kit içeriği aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 4).



Resim 3: ELISA-VIDITEST anti-BKV IgG kiti.

Tablo 4: BKV IgG kit içeriği.

Malzemeler	Özellikler
Mikro ELISA Plakası	8 kuyu × 12 şerit
Standart A (Negatif kontrol)	1 şişe, 1,3 mL
Standart D (Kalibratör)	1 şişe, 1,3 mL
Standart E (Pozitif kontrol)	1 şişe, 1,3 mL
HRP ile işaretlenmiş Anti-insan IgG antikorları	1 şişe, 13 mL
Yıkama tamponu konsantresi	1 şişe, 55 mL
Seyreltme tamponu	1 şişe, 60 mL
Kromojenik substrat	1 şişe, 13 mL
Stop solüsyonu	1 şişe, 13 mL

Örnekler -20°C 'den alınarak ELISA işlemi için oda sıcaklığında çözdürülmüştür. Ardından çözülmüş örnekler vortekslenmiştir. Kitin önerisi dahilinde serum örneklerinin 1/101 oranında dilüsyonu sağlanmıştır. Kit içeriğindeki tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir. Kitin belirlediği protokole uygun olarak standartlar (100 μl) ve numuneler (100 μl) mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası çözelti aspire edildikten sonra 250 μl yıkama tamponu eklenerek yıkanmış ve bu işlem dört defa tekrar edilmiştir. Daha sonra her kuyucuğa 100 μl HRP ile işaretlenmiş anti-insan IgG antikor solüsyonu eklenip oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Bu basamak sonrası yıkama işlemi dört defa tekrar edilerek uygulanmıştır. Oyuklara 100 μl kromojenik substrat eklenip ışısız bir ortamda yaklaşık 10 dakika inkübe

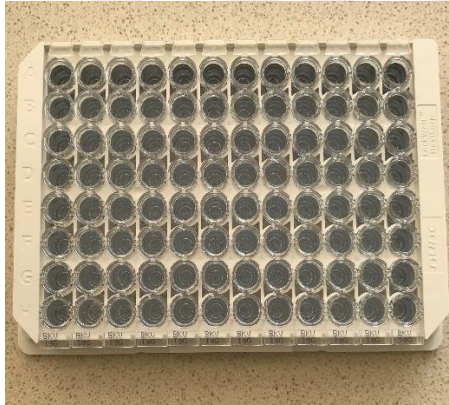
edilmiştir. Son olarak her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklenip işlem sonlandırılmıştır. Sonuçlar optik yoğunluk (OD), 450 nm ± 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ELISA okuyucusunda ölçülmüştür (Resim 4).



1) Standart ve hasta numuneleri kuyucuklara eklenir.



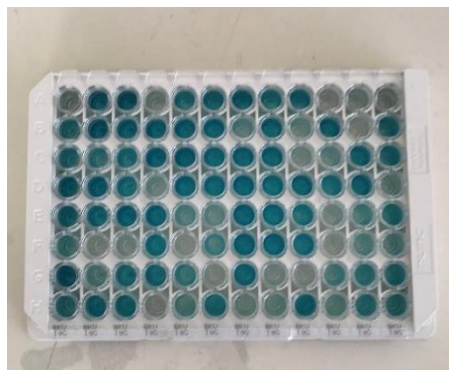
2) Yıkama işlemi dört kere tekrarlanır.



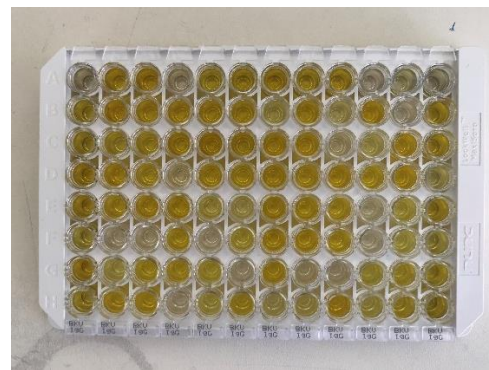
3) HRP ile işaretlenmiş anti-insan IgG antikor solüsyonu eklenir.



4) Yıkama işlemi dört kere tekrarlanır.



5) Her bir kuyucuğa kromojenik substrat eklenir.



6) Son olarak stop solüsyonu koyularak renk değişimi gözlenir.

Resim 4: BKV IgG testinin yapım aşamaları.

Örneklerin değerlendirilmesi: Hasta serumları semikantitatif olarak değerlendirilir. Kullanılan iki kalibratörün ortalaması alınır ve düzeltme faktörüyle çarpılarak cut-off değeri hesaplanır. Her serum örneği bu değere bölünerek indeks değeri hesaplanır. Elde edilen değerler aşağıdaki tabloya göre yorumlanır (Tablo 5). Örnekler için indeks değeri 0,90'dan küçük değerleri negatif olarak kabul ederken, 1,10'dan büyük değerleri pozitif olarak değerlendirdik.

Tablo 5: BKV IgG sonuçların yorumlanması.

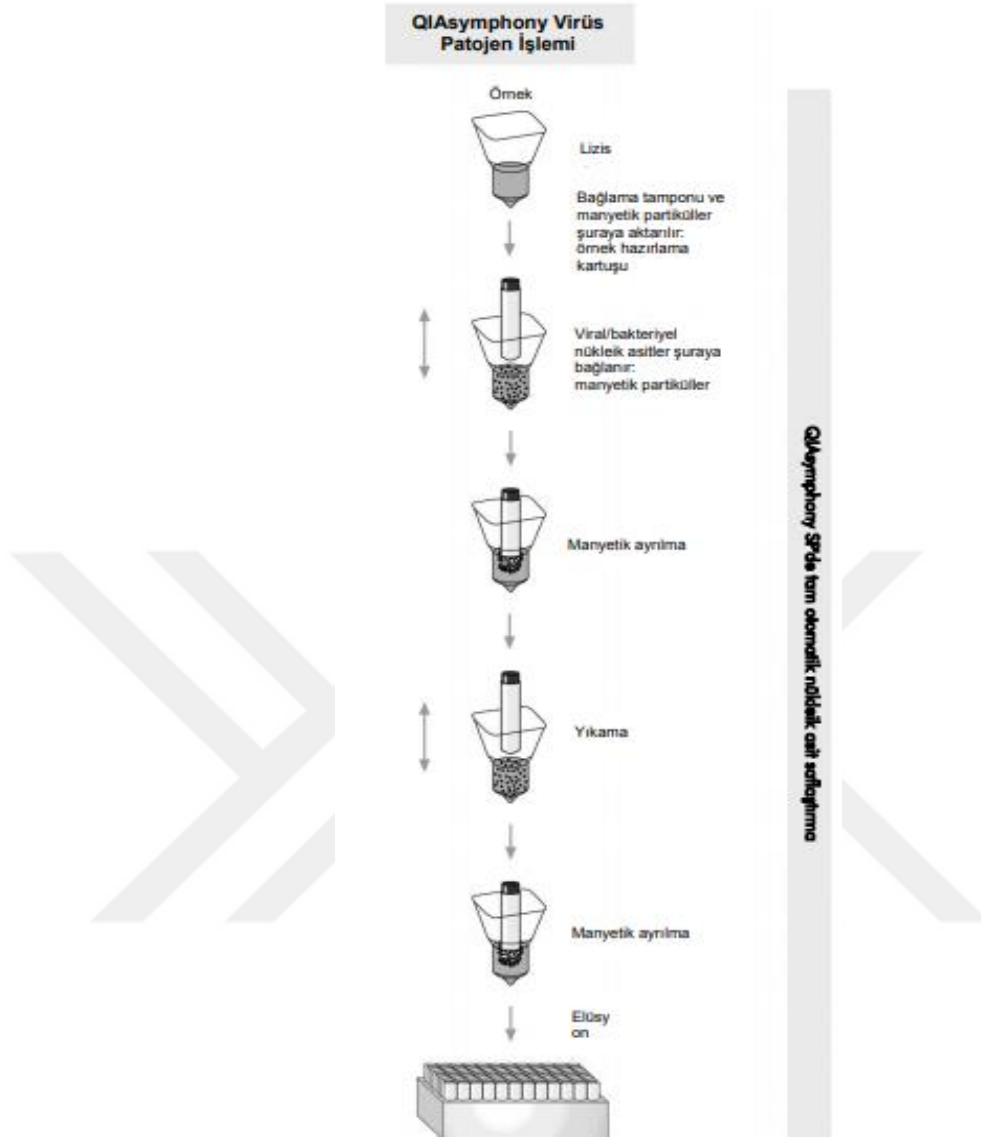
İndeks Değeri	Sonuçlar
< 0,90	Negatif
0,90-1,10	+/-
> 1,00	Pozitif

3.8.3. Örneklerden BKV DNA Nükleik Asit İzolasyonu

Hastalara ait idrar örneklerinden nükleik asit izolasyonu QIASymphony DSP Virüs/patojen kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon kiti içeriği tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: Ekstaksiyon kiti içeriği.

RC	Reaktif Kartuşu
ER	Enzim Askısı
PL	Delme Kapağı
AVE	Tampon AVE (20ml)
AVE	Tampon AVE (2ml)
CARRIER	Taşıyıcı RNA
RSS	Tekrar Kullanılabilir Mühürleme Seti



Şekil 8: Ekstraksiyon kit protokolünün şematik gösterimi.

Saflaştırılacak biyolojik materyal lizis işlemi ile parçalanarak DNA'yı serbest bırakır. Bu işlem sırasında proteinaz K vb. deterjanlar kullanılmaktadır. Daha sonra katı faz izolasyon işlemi olan manyetik boncuklar ortamdaki DNA'ya bağlanır. En son yıkama işlemleri ve boncukların ortadan uzaklaştırılmasıyla virüs DNA'sı içeren elüat elde edilir.

Örnekler $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den alınarak PCR işlemi için oda ısısında çözündürülmüştür. Ardından çözülmüş olan örnekler vortekslenmiştir. Nükleik asit izolasyonu ticari otomatize bir sistem olan QIASymphony SP/AS ekstraksiyon cihazı kullanılarak QIASymphony DSP Virüs/patojen kiti (Qiagen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.

Kitin belirtmiş olduğu protokole uygun olarak, hasta başına 11 µl Internal kontrol, 6 µl Carrier RNA ve 133 µl Buffer AVE ile bir karışım hazırlanmıştır. Bu karışım her hasta için 1,5 ml'lik elüsyon tüplerine 120 µl miks olarak ayrılmıştır. Nükleik asit izolasyonu işlemi için 2 ml'lik vidalı kapaklı tüplere 700 µl idrar örnekleri alınmıştır. Cihazın çalışma prensibine uygun şekilde; hazırlanmış olan karışım, idrar örnekleri, boş elüsyon tüpleri, pipet uçları ve pipet tutucular yerleştirilmiştir. Cihaz izolasyon işlemi sonunda elüsyon hacmi 60 µl olacak şekilde ayarlanarak çalıştırılmış, 45 dakika sonra klinik örneklere ait ekstraksiyon ürünleri elde edilmiştir.

3.8.4. BKV DNA Amplifikasyonu

Amplifikasyon işlemi Rotor-Gene QS-RGQ cihazı ile artus BK Virüs QS-RGQ PCR kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: Amplifikasyon kit içeriği.

Kapak	Bileşen adı	Miktar
Mavi	BK Virüsü RG Master	4x84 µl
Sarı	BK Virüs Mg solüsyonu	400 µl
Kırmızı	BK Virüs Kantitasyon Standartı 1 (1x10 ⁴ kopya/µl)	200 µl
Kırmızı	BK Virüs Kantitasyon Standartı 2 (1x10 ³ kopya/µl)	200 µl
Kırmızı	BK Virüs Kantitasyon Standartı 3 (1x10 ² kopya/µl)	200 µl
Kırmızı	BK Virüs Kantitasyon Standartı 4 (1x10 ¹ kopya/µl)	200 µl
Yeşil	BK Virüs RG Dahili Kontrol (IC)	1000 µl
Beyaz	Su	1000 µl

Tablo 8: Amplifikasyon protokolü.

Solüsyon	Miktar
BK Virüs RG Mastermiks	7 µl
BK Virüs RG Magnezyum Solüsyonu	3 µl
Hasta izolatu	15 µl
Toplam	25 µl

Kullanılacak olan kit -20 °C de muhafaza edilmektedir. İşlem öncesinde oda sıcaklığında gerekli malzemeler çözündürülür. Çözöldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılır. Her hasta için 7 µl master miks ve 3 µl magnezyum solüsyonundan oluşan karışım hazırlanır (Tablo 8). Hazırlanmış olan bu karışımından 10 µl amplifikasyon tüplerine alınır ve üzerine 15 µl hasta izolatından ilave edilir. BKV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi için Rotor Gene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PCR döngü protokolüne göre çalışılmıştır (Tablo 9).

Tablo 9: Pcr döngü protokolü.

Program	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
İlk denatürasyon	95°C	10 dakika	1
Denatürasyon	95°C	15 saniye	45
Bağlanma	65°C	30 saniye	45
Uzama	72°C	20 saniye	45

3.8.5. BK Virüs Real Time PCR Sonuçların Değerlendirilmesi

PCR işleminin sonuçları Green ve Orange kanallarından aşağıda belirtilen dalga boylarına göre değerlendirilmiştir (Tablo 10). PCR eğrileri; pozitif ve negatif kontroller göz önüne alınarak sonuçlar yorumlanmıştır. Green kanalında bir sinyal algılandığı durumda örnek, BK virüs DNA'sı içeriyor şeklinde yorumlanmaktadır. Orange kanalında ise testin internal kontrolünün tespiti ve eş zamanlı olarak kantitatif standartların amplifikasyonu yorumlanmaktadır. Green kanalında sinyal saptanmayıp aynı zamanda orange kanalında internal kontrolden sinyal belirlendiğinde örnekte saptanabilir BK virüs DNA'sı olmadığı ve test sonucunun negatif olduğu kabul edilir.

Tablo 10: PCR'da kullanılan kanallar ve dalga boyları.

Kanal	Dalga boyu
Green	470-510 nm
Orange	585-610 nm

Kantitasyon standartlarına dair amplifikasyon eğrisi ve Ct (cycle threshold) değerlerini aşağıda görebilirsiniz (Şekil 9, tablo 11).

Artus BK Virus QS-RGQ Kit'inin performans özelliklerine bakacak olursak

- Kitin alt saptama sınırı: 26,7 kopya/ml
- Dinamik aralığı: 5×10^{-8} - $8,26 \times 10^7$ kopya/ml'dir.



Şekil 9: Hasta grubundaki kantitasyon standartlarının green kanalı içinde saptanması.

Tablo 11: Hasta grubundaki kantitasyon standartlarının konsantrasyon ve Ct değerleri.

Color	Name	Type	Ct	Ct Comment	Given Conc (copies/ml)	Calc Conc (copies/ml)
	std1	Standard	21,45		$3,00 \times 10^6$	$3,03 \times 10^6$
	std2	Standard	24,90		$3,00 \times 10^5$	$2,66 \times 10^5$
	std3	Standard	27,70		$3,00 \times 10^4$	$3,70 \times 10^4$
	std4	Standard	31,41		$3,00 \times 10^3$	$2,71 \times 10^3$
	ntc	NTC		NEG (NTC)		

3.8.6. Plazma Örneklerinden HIV RNA'nın İzolasyonu ve Amplifikasyonu

Abbott m2000sp Preparation sisteminde nükleik asitlerin yakalanması için manyetik boncuk teknolojisini kullanmakta ve bağlı olmayan numune bileşenlerinin temizlenmesi için partiküller yıkanmaktadır. Sonrasında bağlı nükleik asitler elue edilip çıkış tüplerine veya 96 derin kuyulu plakaya aktarılmaktadır. İşlem için; lizis solüsyonu, elüsyon buffer, wash 1- wash 2 yıkama solüsyonları ve mikropartiküller kullanılmaktadır.

Çalışılacak örnekler -20 °C'den alınarak PCR işlemi için oda ısısında çözdürülmüştür. Ardından çözülmüş olan örnekler vortekslenmiştir. Nükleik asit izolasyonu ticari otomatize bir sistem olan Abbott m2000sp cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Resim 5). Her hasta için 600 µl plazma örneği kullanılmıştır. Kitin belirtmiş olduğu protokole uygun olarak hazırlanmış olan karışım, plazma örnekleri, boş elüsyon tüpleri, pipet uçları ve pipet tutucular yerleştirilmiştir. Cihazda izolasyon işlemi sonunda elüsyon hacmi 60 µl olacak şekilde ayarlanarak çalıştırılmış ve 215 dakika sonrasında 96 örneğin izolasyonu sağlanmıştır.



Resim 5: Abbott m2000sp cihazı.

Amplifikasyon işlemi Abott RealTime HIV-1 Reagent kiti kullanılarak m2000rt cihazında çalışılmıştır. Kit için hedef dizilim, HIV-1 genomunun *pol* integraz

bölgesidir. Bu kit içerisinde; termostabil rTth polimeraz enzimi, oligonükleotid reaktifi ve amplifikasyon reaktifi bulunmaktadır (Resim 6).



Resim 6: Abbott RealTime HIV-1 Reagent kiti.

Kullanılacak olan kit $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de muhafaza edilmektedir. İşlem öncesinde oda sıcaklığında gerekli malzemeler çözündürülür. Çözüldükten sonra sırasıyla vorteks ve santrifüj işlemi yapılır. Her hasta için $50\text{ }\mu\text{l}$ miks karışım hazırlanır ve üzerine $50\text{ }\mu\text{l}$ hasta izolatu ilave edilir. HIV için kitin belirlediği internal kontrol, negatif kontrol ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Amplifikasyon işlemi için m2000rt (Abbott) cihazı kullanılmıştır. Hazırlanan amplifikasyon tüpleri cihaza yerleştirilip PCR döngü protokolüne göre çalışılmış ve 180 dk sonra sonuçlar değerlendirilmeye hazır hale gelmiştir. Döngü işlemi boyunca floresan yanıt verileri toplanır, bu da PCR floresan büyüme eğrilerinin saptanmasını sağlamaktadır.

Sonuçları değerlendirirken; numunelerdeki HIV-1 RNA konsantrasyon miktarını tayin etmek için bir kalibrasyon eğrisi kullanılır. Eğriyi oluşturmak için reaktif bir floresan sinyali seviyesinin tespit edildiği eşik döngüsüne (Ct) ve buna karşı oluşan HIV-1 konsantrasyon logaritmasına ihtiyaç vardır. Kalibrasyon eğrisinin eğimi ve kesişimi cihaz üzerinde hesaplanır ve kaydedilir. Sonuçlar kantitatif olarak değerlendirilir.

Bu sonuçlara göre;

- Testin alt saptama sınırı 40 kopya/ml
- Dinamik aralığı: 14,5-28000000 kopya/ml'dir.

4. BULGULAR

Çalışmamıza İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi enfeksiyon polikliniğine başvurmuş 64 HIV pozitif hastanın ve aile hekimliğine başvurmuş 32 HIV negatif hastanın idrar ve kan örnekleri alınarak BKV IgG ve BKV DNA değerleri incelenmiştir.

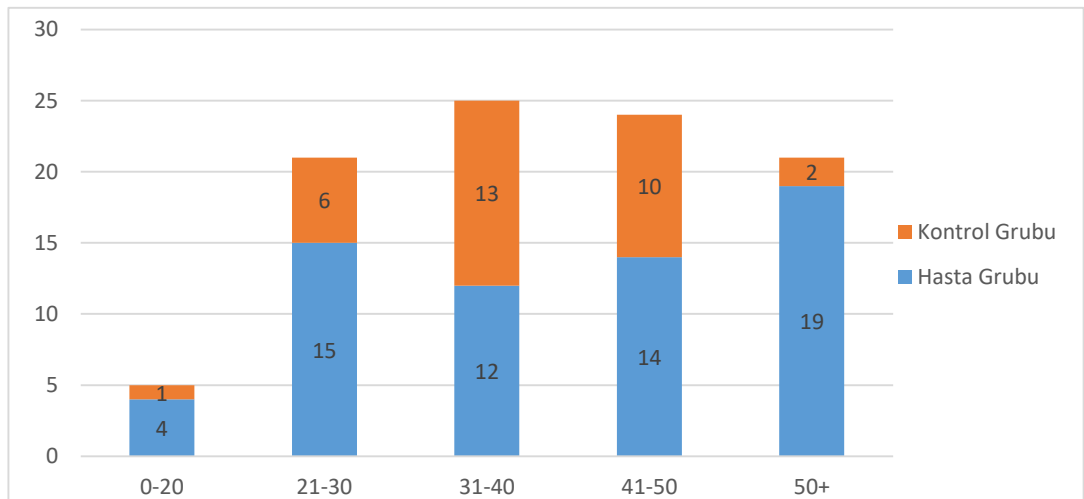
4.1. Demografik Veriler

HIV (+) hasta grubundaki 64 hastanın 53'ü erkek, 11'i kadındır. En küçük hasta yaşı 20 en büyük 88'dir. Hastaların yaş ortalaması 42,3 standart sapması 15,8 ortanca (median) değeri 41'dir (Tablo 12).

Kontrol grubundaki 32 hastanın 18'i erkek ve 14'ü kadındır. En küçük hasta yaşı 21 en büyük hasta yaşı 65'tir. Hastaların yaş ortalaması 37,7 standart sapması 9,20 ortanca (median) değeri 39'dur. Hasta ve kontrol grubunun yaşa göre dağılımını aşağıdaki grafikte görebilirsiniz (Şekil 10).

Tablo 12: Çalışma gruplarının cinsiyet dağılımı.

Cinsiyet	HIV (+) grup	Kontrol grubu
Erkek	53 (%82,8)	18 (%56)
Kadın	11 (%17,1)	14 (%44)
Toplam	64	32



Şekil 10: Çalışma gruplarının yaşa göre dağılımı.

Hasta grubundaki olgulara ait demografik veriler aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 13). Hastaların 44'ünde ek hastalık bulunmamaktadır. Diyabet en sık görülen komorbid faktördür. Bazı hastalarda (%6) diyabet ve hipertansiyon birlikteliği bulunmaktadır. Kontrol grubunda kronik hastalığı olan kimse bulunmamaktadır.

Tablo 13: Hasta grubunun demografik özellikleri.

Cinsiyet n (%)	K:11 (%17,1) / E:53 (%82,8)
Ortalama yaş	42,3 ± 15,7 (20-88 y)
Komorbid hastalık	
Diyabet	6 (%9,3)
Hipertansiyon	5 (%7,8)
Kanser	5 (%7,8)
Bağ doku hastalıkları	2 (%3,1)
Latent TBC	3(%4,6)
KOA	1 (%1,5)

4.2. Yöntemlere Göre Pozitif Saptanan Örnekler

4.2.1. Serum Örneklerinden BKV IgG Araştırılması

Hasta ve kontrol gruplarından alınan toplam 92 serum örneği ile yaptığımız çalışmada; BKV IgG'si pozitif olan 68 hasta bulduk. Çalışmamıza göre BKV IgG pozitifliği %73,9'dur.

Çalışma popülasyonundaki hasta yaşları ile BKV IgG sonuçları arasındaki ilişkiyi anlamak için hastaları yaşlarına göre beş gruba ayırdığımızda gruplar arası en fazla antikor pozitifliği 41-50 yaş arasında görülse de; gruplar arası istatistiksel olarak bir fark bulamadık (p: 0,277) (Tablo 14).

Tablo 14: Çalışma grubunda yaş gruplarına göre BKV IgG sonuçları.

		BKV IgG		Total
		Pozitif (%)	Negatif (%)	
Yaş grupları	0-20	3 (%60)	2 (%40)	5
	21-30	14 (%70)	6 (%30)	20
	31-40	15 (%71,4)	6 (%28,6)	21
	41-50	19 (%76)	6 (%24)	25
	50+	17 (%80,9)	4 (%19,1)	21

Hasta ve kontrol gruplarının BKV IgG sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 15). Verilere bakacak olursak; HIV (+) hasta grubu ile kontrol grubundaki BK IgG pozitiflikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yakaladık (p: 0,045). Sonuçlara göre HIV (+) hastalarda daha yüksek oranda BKV IgG pozitifliği görülmüştür.

Tablo 15: Çalışma gruplarının BKV IgG pozitiflikleri.

Çalışma grupları	BKV IgG		P
	Pozitif (%)	Negatif (%)	
Hasta grubu	48 (%77,4)	14 (%22,76)	0,045
Kontrol grubu	20 (%66,6)	10 (%33,3)	

Tüm çalışma gruplarındaki BKV DNA'sı pozitif olan hastaların %85,7'sinde BKV IgG pozitifliği görülmüştür. BKV IgG'si negatif 24 hastanın %91,6'sında BKV DNA negatifliği de görülmesi ayrıca dikkat çekmiştir (Tablo 16). Fakat BKV IgG sonuçları ile BKV DNA sonuçları arasında anlamlı bir ilişki bulamadık (p: 0,277).

Tablo 16: BKV DNA sonuçları ile BKV IgG sonuçlarının karşılaştırılması.

		BKV IgG		Total
		Pozitif (%)	Negatif (%)	
BKV DNA	Pozitif	12 (%85,7)	2 (%14,3)	14
	Negatif	56 (%71,7)	22 (%28,3)	78
Total		68	24	92

4.2.2. İdrar Örneklerinden BKV DNA Araştırılması

96 örnek ile yaptığımız çalışmada BKV virüsü olan 14 (%14,5) hasta yakaladık bunlardan biri kontrol grubunda diğerleri HIV (+) hasta grubundadır.

Yapılan Real time PCR ile HIV (+) gruptaki 64 hastanın 13'ünün (%20,3) idrarında BKV DNA saptadık. Pozitiflik saptanan 13 hastanın %23'ü kadın, %77'si erkektir (Tablo 17). Hastaların cinsiyeti ile BKV DNA sonuçları arasında anlamlı bir ilişki bulmadık (p:0,532).

Tablo 17: Hasta grubundaki PCR pozitifliklerinin cinsiyete göre dağılımı.

Cinsiyet	BKV DNA		Toplam
	Pozitif	Negatif	
Erkek	10	43	53
Kadın	3	8	11
Toplam	13	51	64

Sonuçlara baktığımızda; 13 BKV DNA pozitif hastayı yaş gruplarına göre ayrıldığında en yüksek oran (%33) 21-30 yaş aralığıdır, bunu 41-50 yaş aralığı takip etmektedir. En düşük oran ise 0-20 ile 31-40 yaş aralığıdır (Tablo 18). BKV DNA sonuçları ile yaş grupları arasında anlamlı bir ilişki bulmadık (p:0,354).

Tablo 18: BKV DNA sonuçları ile yaş karşılaştırılması.

Yaş	BKV DNA	
	Pozitif (%)	Negatif (%)
0-20	1 (%7,6)	3 (%5,8)
21-30	5 (%38,4)	10 (%19,6)
31-40	1 (%7,6)	11 (%21,5)
41-50	3 (%23,1)	11 (%21,5)
50+	3 (%23,1)	16 (%31,3)
Toplam	13 (%100)	51 (%100)

Kronik hastalıkları değerlendirdiğimizde ise pozitif saptanan hastaların sadece birinde diyabet, bir diğerinde de diyabet + hipertansiyon görülmüştür. BKV DNA ile komorbid hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki bulmadık.

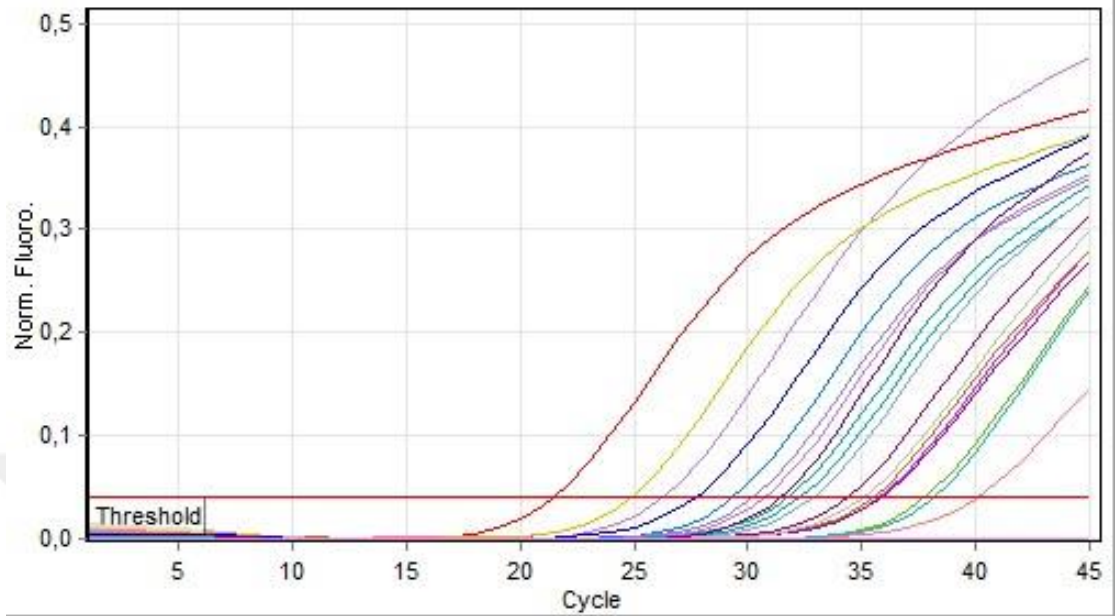
Kontrol grubunu değerlendirdiğimizde ise 32 hastadan sadece birinde idrarda BKV DNA pozitifliği saptanmıştır. Vaka 39 yaşında kadın hastadır.

Aşağıdaki tablo 19'da da görüldüğü üzere hasta grubu ile kontrol grubu BKV DNA sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulduk (p: 0,025). Sonuçlara göre HIV enfekte hastalarda daha yüksek oranda BKV virüsü görüldü.

Tablo 19: Çalışma gruplarının BKV DNA sonuçlarıyla karşılaştırılması.

	BKV DNA (+)	BKV DNA (-)	Toplam	P
HIV (+) grup	13 (%20,3)	51 (%79,7)	64	0,025
Kontrol grubu	1 (%3,1)	31 (%96,9)	32	

Pozitif saptanan hastalara ait BKV DNA değerleri aşağıda gösterilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11: Hasta grubundaki BKV DNA pozitifliğini gösteren amplifikasyon eğrisi.

Tablo 20: İdrarda BKV DNA görülen hastaların diğer laboratuvar sonuçları.

Pozitif BKV DNA Yükleri (kopya/ml)	BKV IgG	HIV RNA (kopya/ml)	CD4 (hücre/m ³)	WBC (10 ⁹ /L)	Lenfosit (10 ⁹ /L)	Kreatin (mg/dl)
Hasta Grubu						
1	1,01 x10 ⁵	+	1648172	155	5,08	1,83
2	3,02 x10 ⁴	+	29122	144	4,71	1,61
3	1,47 x10 ³	+	40	915	9	3,6
4	1,14 x10 ⁴	+	788289	177	4,19	1,96
5	1,25 x10 ²	+	6478	675	7,22	2,02
6	9,93 x10 ²	+	6478	756	6,39	1,62
7	6,29 x10 ³	+	314327	31	4,96	0,45
8	4,42 x10 ³	+	140	756	5,2	2,8
9	1,57 x10 ²	+	111	682	6,28	1,98
10	2,09 x10 ³	+	9040	716	8,08	2,17
11	1,20 x10 ²	-	24901	488	3,92	1,22
12	3,27 x10 ²	+	<40	342	4,34	1,85
13	2,07 x10 ²	-	10000000	180	4,54	0,62
Kontrol Grubu						
1	2,27 x10 ²	+			7,12	2,21
						0,91

Yukarıda pozitif saptanan hastalara dair laboratuvar bulgularını görebilirsiniz (Tablo 20). PCR sonuçlarının HIV RNA ile ilişkisini incelediğimizde; hasta grubunda BKV DNA pozitif saptanan 13 hastanın 12'sinde de (%92,3) HIV RNA değerleri pozitif bulunmuştur (Tablo 21). Pozitif HIV RNA değerleri 40 kopya/ml ile 10000000 kopya/ml arasında geniş bir skalada dağılmaktadır. HIV RNA pozitif hastalarda negatif hastalara göre idrardaki BKV DNA sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yakaladık (p: 0,032). HIV RNA değerlerini kantitatif olarak değerlendirdiğimizde; HIV viral yükü ile BK virüsü arasında da anlamlı bir ilişki bulduk (p: 0,018). Ayrıca bu iki kategori arasındaki korelasyonu incelediğimizde; BKV virüsü ile HIV viral yükleri arasında pozitif bir korelasyon saptadık. Yani HIV RNA değerleri arttıkça BKV DNA pozitifliği görülme ihtimali artmaktadır (p: 0,016).

Tablo 21: BKV DNA ile HIV RNA sonuçlarının karşılaştırılması.

	BKV DNA (+)	BKV DNA (-)	Toplam	P
HIV RNA (+)	12	31	43	0,032
HIV RNA (-)	1	20	21	
Toplam	13	51	64	

Anti-HIV tedavisi başlanan hastalarda tedaviye yanıtı değerlendirilirken HIV RNA değerleri takip edilir. Bu aşamada Sağlık Bakanlığı'nın 2019 HIV Tanı ve Tedavi Rehberi'nde de bahsedildiği gibi tedavi başarısını değerlendirirken HIV RNA sonucu 200 kopya/ml değeri baz alınmaktadır. Genellikle bu değer üzerindeki seviyeler tedaviye yanıtı olarak değerlendirilir.

Çalışmamızda BKV DNA pozitif hastaların %69,2'sinin HIV RNA düzeyleri 200 kopya/ml'nin üzerindedir (Tablo 22). Bu 9 hastanın 2'si yeni tanılı veya tedaviye başlamamış hastalardır. Geriye kalan 7 hasta tedaviye yanıtı olarak kabul edilebilir. Tedaviye yanıtı olmayan hastalarda idrarda BKV DNA pozitifliği daha fazla görülse de sonuçları istatistiksel olarak incelediğimizde HIV RNA değerinin 200 kopya/ml'nin altında ve üstünde seyretmesi ile BKV DNA sonuçları arasında anlamlı bir fark bulmadık (p: 0,073).

Tablo 22: BKV DNA sonuçları ile HIV RNA gruplarının karşılaştırılması.

	BKV DNA (+)	BKV DNA (-)	Toplam	P
HIV RNA > 200 kop/ml	9	21	30	0,073
HIV RNA < 200 kop/ml	4	30	34	

HIV enfekte hastalarda CD4 düzeyi immün sistemin bir göstergesidir. CD4 düzeyi 200 hücre/mm³'ün altına düştükçe fırsatçı enfeksiyonların görülme riski artar. Hasta grubumuzu ele aldığımızda CD4'ü 200 hücre/mm³'ün altında olan hastaların %50'sinde, CD4'ü 200 hücre/mm³ üzerinde olanların %14,8'inde BKV DNA pozitifliği saptadık (Tablo 23). Sonuçlarımıza göre CD4 200 hücre/mm³ sınırının altı ve üzerindeki değerler ile BKV DNA sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (p: 0,012). Kandaki CD4 değerlerinin BK virüsü sıklığı arasındaki ilişkiye baktığımızda ise CD4 ile idrarda BKV DNA pozitifliği arasında negatif bir korelasyon vardır (p:0,029). Yani CD4 düzeyi düştükçe idrarda BKV DNA görülme ihtimali artar.

Tablo 23: BKV DNA sonuçları ile CD4 değerlerinin karşılaştırılması.

CD4 değeri (hücre/mm ³)	BKV DNA pozitif	BKV DNA negatif	Toplam	P
CD4 > 200	8	46	54	0,012
CD4 < 200	5	5	10	
Toplam	13	51	64	

HIV (+) hasta grubundaki beyaz küre (WBC) değerlerine baktığımızda 64 hastanın 8'inde lökositoz görülmektedir. BKV DNA'sı pozitif 13 hastanın WBC değerleri normal seviyelerde seyretmektedir. Bu verilere göre BKV DNA pozitif hastalarla, BKV DNA negatif hastaların WBC değerleri arasında anlamlı bir fark vardır (p: 0,007). Ayrıca BKV DNA sonuçları ile WBC arasında korelasyonu incelediğimizde düşük oranda ilişki bulduk (p: 0,011 r: -0,316). Yani WBC değeri düştükçe BKV DNA pozitifliği görülme ihtimali artar.

Altmışdört hastanın laboratuvar bulgularında sadece dördünde lenfopeni mevcuttur. Altmış hastanın lenfosit değerleri normal seviyelerdedir. Lenfopeni görülen hastaların %50'sinde BKV DNA pozitifliği görülmektedir. Sonuçları istatistiksel olarak incelediğimizde lenfosit değerleri ile BKV DNA sonuçları arasında anlamlı bir ilişki bulmadık (p: 0,056).

5. TARTIŞMA

BK virüsü; ilk olarak 1971 yılında böbrek transplantasyonu yapılan ve üreteral darlık gelişen bir hastanın idrarından, Gardner ve arkadaşları tarafından izole edilmiş ve hastanın isminin baş harfleri kullanılarak adlandırılması yapılmıştır [12]. BKV dünyada yaygın olarak bulunsa da asemptomatik seyrederek latent kalan virüslerdir. Özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde reaktive olarak çeşitli tablolara yol açmaktadır.

Dünyada BK virüs serolojisine bakacak olursak, erişkin popülasyonun % 90'a yakınında seropozitiflik görülür [45]. Gardner ve arkadaşları, İngiltere'de 500 erişkin üzerinde yaptığı bir çalışmada BKV seroprevalansını %70-80 bulmuşlardır [74]. Benzer tarihlerde Portolani ve arkadaşları, İtalya'da 453 kişi ile yaptıkları prospektif bir çalışmada sağlıklı erişkinlerin %79-83'ünde BKV seropozitifliği bulmuşlardır [75]. 2009 yılında İsviçre'de, yaşları 20-59 arasında değişen sağlıklı 400 erişkin ile yapılan çalışmada ise Egli ve arkadaşları BKV seroprevalansını %82 bulmuşlardır [76].

Ülkemizde US ve arkadaşları tarafından yapılan, 1123 sağlıklı kişinin dahil edildiği bir çalışmada, BKV seroprevalansı % 78,5 olarak bulunmuştur [77]. Bizler ise, hasta grubunu oluşturan HIV (+) ve kontrol grubunu oluşturan HIV (-) gönüllüden topladığımız 92 serum örneği ile yaptığımız çalışmada, BKV seroprevalansını %73,9 bulduk. Sonuçlarımız BKV'nin ülkemizde de yaygın olduğu kanısını desteklemektedir.

BKV' nin oluşturduğu primer enfeksiyon genellikle çocukluk çağında görülür. Bu dönemde, BKV seroprevalansı %90-100'lere kadar çıkabilir. Yaş arttıkça BKV antikorlarının azaldığı kabul edilir. Stolt ve ark.'ları, yaşları 1-13 arasında değişen 238 kişide BKV seroprevalansını araştırmışlardır. Yaşlarına göre sınıflandırdıkları beş grupta yapılan çalışmada en düşük oranı 1-3 yaş aralığında bulmuşlardır. Yaşla birlikte oran artmış ve 7-9 yaş aralığında BKV seroprevalansı %98'e kadar çıkmıştır. Dokuz yaş sonrasında ise bu oran düşmeye başlamış ve 11-13 yaş aralığında BKV IgG pozitifliği %78'e kadar gerilemiştir [78]. Engels ve ark.'larının polyoma virüs sıklığını araştırdıkları çalışmada, kontrol grubu sağlıklı 622 kişinin %64'ünde BKV IgG pozitifliği bulmuşlardır. Pozitif vakaları yaşlarına göre gruplandırdıklarında, %74 ile en yüksek oran 45-54 yaş aralığında görülmüştür. Ayrıca çalışmada BKV

seroprevalansı, yaş arttıkça azalmıştır [79]. Biz ise yaşlarına göre beş farklı gruba ayırdığımız hastalarımız ile yaptığımız çalışmada, en yüksek BKV seroprevalansını %80,9 ile 50 yaş üzerinde gözlemledik. Fakat BKV IgG sonuçları ile yaş arasında anlamlı bir fark bulamadık. Daha sağlıklı bir sonuç elde edebilmek için her yaş grubundan eşit sayıda hasta örneği alınması gerektiğini düşünüyoruz.

Randhawa ve arkadaşları, 71 donör, 81 renal transplant alıcısı ve 67 solid organ transplantasyonu yapılmış hasta ile yaptığı bir çalışmada toplam BKV seroprevalansını %85 bulmuştur. Gruplar ayrı ayrı incelendiğinde 71 donörün %80,3'ünde, 81 renal transplant alıcısının %81,5'inde ve transplantasyon yapılmış 67 hastanın %97'sinde BKV IgG pozitif bulmuşlardır. Transplantasyon sonrası idrar veya kanda BKV DNA saptanan hastaların da hepsinde BKV IgG pozitif bulunmuştur [80].

Çalışmamızda hasta gruplarını tek tek ele aldığımızda; kontrol grubundaki hastaların %66,6'sında ve HIV(+) hastanın da %77,4'ünde BKV IgG pozitifliği saptanmıştır. HIV (+) hasta grubunda kontrol grubuna göre BKV IgG pozitifliği anlamlı olarak daha yüksek seyretmiştir. Ayrıca idrarında BKV DNA saptanan hastaların %85,7'lik kısmında BKV IgG pozitifliği eşlik etmiştir.

5.1. Transplantasyon Sonrası BKV DNA Sonuçları

Primer enfeksiyon sonrası genitoüriner sistemde latent kalan BKV, immunsuprese kişilerde zamanla üreteral darlıktan BK virüs nefropatisine kadar ilerleyebilir. BK virüs reaktivasyonunda henüz klinik tablolar oluşmadan önce ilk olarak virüri ortaya çıkar. Splendiani ve ark.'ları 37 karaciğer (KC) transplantasyonu ve 81 böbrek transplantasyonu yapılan 118 hastayı incelediklerinde tüm popülasyonda virüri sıklığı %13,5 bulmuşlardır. KC transplantasyonunu (5/37) ve böbrek nakillerini (11/81) ayrı ayrı değerlendirdiğinde ise iki grupta da virüri sıklığı %13,5'tir [81]. Munoz ve ark.'ları 156 solid organ transplantasyonu yapılan hastalarda virüri sıklığını araştırmıştır. 156 hastanın 49'u böbrek nakli, 43'ü kalp nakli ve 64'ü KC nakli olan hastaların ortalama yaşı 52 ve nüfusun %65'i erkektir. Munoz ve ark.'ları tüm popülasyonun %19 'unda virüri saptamışlardır. Böbrek nakli olan hastaların %26,5, kalp nakli hastalarının %25,5 ve KC nakil hastalarının %7,8'inin idrarında BKV DNA saptanmıştır [82]. Doucette ve ark.'ları böbrek dışı solid organ transplantasyonu (7 kalp, 25 KC, 28 akciğer) yapılan 60 hastada virüriyi %15 bulurken her bir nakil grubu

kendi aralarında benzer virüri oranlarına sahiptir [83]. Barton ve ark.'ları böbrek dışı solid organ transplantasyonu olup kronik renal fonksiyon bozukluğu bulunan ve minimum 3 aydır immunsupresif tedavi alan 34 kişinin 5'inde (%14,7) virüri saptamışlardır [84]. Brennan ve ark.'ları renal transplantasyon sonrası takrolimus veya siklosporin alan 200 hastanın 70'inde (%35) idrarda BKV DNA'ya rastlamışlardır [85]. Sanchez ve ark.'ları renal transplantasyon yapılan 254 hasta ile yaptıkları prospektif bir çalışmada virüri %28,74 bulmuştur [86].

HIV (+) 64 hasta ve HIV (-) 32 gönüllüden oluşan çalışma grubumuzda virüri sıklığını incelediğimizde toplam 96 hastanın %14,5'inin idrarında BKV DNA'ya rastladık. Aynı ayrı değerlendirdiğimizde; HIV (-) kontrol grubunda sadece tek hastada virüri görülürken HIV (+) 64 hastanın 13'ünde (%20,3) virüri saptadık. Bu iki grup arasında anlamlı bir fark olduğunu bulduk.

Hirsch ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; ileri yaş, erkek cinsiyet, diyabet varlığı ve beyaz ırkı BK virüs nefropatisi için risk faktörü olarak bildirmişlerdir [87]. Flores ve arkadaşları inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) olan 53 hasta ve İBH olmayan 53 gönüllü ile yaptıkları bir araştırmada BK virüs ile barsak hastalıkları arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. İBH hastalarının %54,7'sinin (29/53) idrarında BKV DNA saptamışlardır. BKV virüsüne, İBH hastalarında, kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yaygın rastlamışlardır. Sonuçları cinsiyetlerine göre değerlendirdiklerinde; eşit sayıda kadın ve erkek içeren hasta grubunda pozitif saptanan 29 idrarın 12'si erkek, 17'si kadın hastalara aittir. Flores ve arkadaşları BKV DNA sonuçları ile cinsiyet arasında anlamlı bir fark bulmamıştır. Hiçbir hastada viremi görülmemekle birlikte virüri ile tek ilişkili faktörün yaş olduğunu bulmuşlardır. Yaşa birlikte virüri sıklığı artmıştır [88]. Shenagari ve arkadaşlarının yaptığı prospektif bir çalışmada; 110 böbrek transplant alıcısında BKV risk faktörlerini araştırmışlardır. 110 hastanın 44'ü kadın 66'sı erkektir. Çalışmada virüri sıklığı %49 bulunmuştur. İdrarda BKV DNA pozitif 54 hastanın 24'ü kadın 30'u erkektir. Viremi sıklığını ise %20 bulmuşlar ve pozitif 22 hastanın 17'si erkek, 5'i kadındır. Bu çalışmada cinsiyet ve BKV sonuçları arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır [89]. Loeches ve arkadaşları KC nakli olmuş 62 hastada BKV DNA değerlerini araştırmışlardır. PCR sonuçlarına göre 62 hastanın %21'inde virüri saptamışlar ve pozitif saptanan 13 hastanın 4'ü kadın 9'u erkektir. Viremi sıklığını ise

%17,7 bulmuşlardır. Viremi görümler 11 hastanın 8'i erkek, 3'ü kadın hastadır. Çalışmada hem idrar hem de kan örneklerinin pozitiflik saptananlarında erkek sayısı kadın sayısına göre daha fazla olsa da cinsiyet ile BKV DNA sonuçları arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır [90]. Çalışmamızda virüri sıklığını sırasıyla HIV (+) hastalarda %20,3 ve kontrol grubunda %3 bulduk. Hasta grubunda pozitif saptanan 13 hastanın 10'u erkek 3'ü kadındır. Kontrol grubunda ise tek pozitif vaka kadın hastadır. Sonuçlarımıza göre diğer birçok çalışmada olduğu gibi Hirsch ve ark.'larının aksine cinsiyet ile BKV sonuçları arasında anlamlı bir fark bulamadık.

Zhong ve ark.'ları immun yetmezliği olmayan 450 kişi ile yaptıkları çalışmada, yaş grupları ile BKV virüsünü karşılaştırmıştır [91]. İmmünespresif ya da kanser tedavisi almayan 391 poliklinik hastası ve 99 sağlıklı gönüllüyü çalışmaya dahil etmişlerdir. Hastaları 9 yaş grubuna (0-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, 70-79, 80-89 yaş) ayırarak PCR yöntemiyle idrarda BKV DNA değerlerini incelemişlerdir. 0-9 yaş aralığında virüri sıklığını %24 olarak saptamışlardır. Yaş ilerledikçe bu oranının azaldığı gözlemlenmiştir. 20-29 yaş aralığında virüri %13'tür ve gruplar arası en düşük orana sahiptir. Diğer yaş grubu 30-39'da ise oran %22'dir. Bu yaş grubundan sonra idrarda BKV DNA görülme sıklığı kademeli olarak artmıştır (sırasıyla %24, %30, %32, %38, %44). Son grup olan 80-89 yaş aralığında virüri sıklığını %44 ile gruplar arasında ki en yüksek oran olarak belirlemişlerdir. Yaş grupları; yaşlı nüfus (60-69, 70-79, 80-89) ve genç yaş grubu (0-9, 10-19, 20-29) olarak kıyaslandıklarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Gruplar tek tek incelendiğinde yine bu dokuz grup arasında da anlamlı bir fark bulamamışlardır. Çalışmamızda, kontrol grubunu oluşturan 32 immünkompetan gönüllü ile yaptığımız testler neticesinde BKV virüri sıklığını %3 bulduk. Kontrol grubunda sadece tek vaka görüldüğü için yaşlar arası bir kıyaslama yapılamamıştır. Gruptaki hasta sayısının yetersiz olmasından dolayı net bir sonuca ulaşmamız mümkün değildir.

HIV-1 enfeksiyonu, günümüzde edinilen bağışıklık yetmezliğinin en sık nedenini temsil etmektedir. Doğal seyir, vücudun immun sistemini baskılaması sonucunda ortaya çıkan fırsatçı enfeksiyonlar ve ağır bir immün yetmezlik tablosu olan AIDS'in oluşmasıdır. Lenfotropik ve nörotropik bir RNA virüsü olan HIV özellikle

bağışıklık yanıtını yöneten CD4 hücrelerin enfekte eder. Patogeneizde ana belirleyici, CD4 eksprese eden T hücreleri ve makrofajlara karşı virüsün gösterdiği tropizimdir.

HIV enfeksiyonunda en belirgin immünolojik değişiklik T lenfositlerin litik enfeksiyonu sonucu CD4 hücrelerinin azalmasıdır. Bunu CD8 T lenfositlerinin ve makrofajların fonksiyonlarının bozulması takip eder. Sonuçta virüs hem direkt hücre enfeksiyonu hem de dolaylı olarak hücre fonksiyonları üzerindeki etkisiyle hücrel ve humoral immün cevapta defekte yol açar.

BKV'nin çoğalması ve hastalık oluşturması için immünsüpresyon derecesinin, önemli bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir. HIV enfeksiyonuna bağlı uzun süreli immünsüpresyon BK virüs replikasyonu için uygun bir ortam hazırlamaktadır. Bunun sonucu BKV HIV pozitif hastalarda fırsatçı enfeksiyon olarak karşımıza çıkmaktadır.

5.2. HIV ile Enfekte Hastalarda BKV DNA Sonuçları

HIV ve BKV ilişkili çalışmalara baktığımızda; Sundsfjord ve ark.'ları 82 HIV hastası ile yaptıkları prospektif bir çalışmada virüri oranını %24 bulmuştur [92]. Silva Nali ve ark.'ları Brezilyada erişkin 74 HIV (+) hastayla yaptığı çalışmada idrarda BKV DNA oranını %18,7 olarak bulmuş [93], Ledesma ve ark.'ları 78 HIV (+) hastada bu oranı %57,7 bulmuştur [94]. Knowles ve ark.'ları İngiltere'de yaptıkları bir çalışmada 94 HIV enfekte hastanın %34'ünde idrarda BK virüsüne rastlamışlar [95], Behzad-Behbahani ve ark.'ları İran'da yaptıkları çalışmada 63 HIV (+) hastanın %30,1'inde virüri saptamışlardır [96]. 2015 yılında Koralic ve ark.'ları HIV hasta grubunun %50,8'inde virüri saptarken [97]; son olarak 2018 yılında Hu ve ark.'ları HIV hastalarının %64,2'sinde idrarda BKV DNA'ya rastlamışlardır [98].

Sundsfjord ve ark.'ları HIV ile polimovirüsler arasındaki ilişkiyi araştırdığı kapsamlı bir çalışma için 3 farklı hasta grubu kullanmıştır. İlk grup 82 HIV (+) hasta, ikinci grup böbrek transplantasyonu olmuş 27 hasta ve üçüncü grup hastanede ayaktan tedavi olmuş 56 gönüllüdür. Bu üç grup arasında BK virüsünü değerlendirdiğinde; ilk grubun %24'ünde, ikinci grubun %7'sinde idrarda BKV DNA'sına rastlanmış fakat üçüncü grupta virüri saptamamışlardır. Sonuçlarına göre HIV enfekte bireyler ile hem ayaktan başvuran hastalar arasında hem de renal transplant alıcılarında anlamlı bir fark görülmüştür. Birinci gruptaki hastaları CD4 değerlerine göre gruplandırdığında ise

BKV virürisi ile aralarında bir korelasyon saptamamışlardır. Çalışmada ayrıca BKV IgG sonuçlarını da değerlendirdiklerinde; HIV (+) hastaların %95'inde (78/82) BKV IgG pozitifdir. Negatif olan 4 vakanın ikisinde idrarda BKV DNA saptanmıştır. Sonuç olarak BKV antikor ile HIV arasında anlamlı bir fark bulmamışlardır [92]. Flaegstad ve ark.'ları 25 biseksüel AIDS hastası, 24 HIV enfekte erkek ve sağlıklı 18 biseksüel erkekle yaptıkları çalışmada BKV antikorlarını araştırmışlardır. Birinci grubun %68'inde, ikinci grubun %96'sında ve üçüncü grubun %83'ünde BKV IgG pozitifliği görülmüştür. Sonuçlara baktığımızda en yüksek oran HIV (+) hastalarda görülmüştür. Çalışmada ayrıca AIDS hastalarının olduğu grupta BKV IgG pozitifliği hem sağlıklı popülasyonda hem de HIV(+) hastalardan daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebini de HIV enfeksiyonuna bağlı antikor üretiminin azalmasına ve aşırı virüs antijenine bağlanma olarak öngörmüşlerdir [99]. Bizim çalışmamızda da Flaegstad ve ark.'ları gibi HIV (+) hasta grubunda BKV IgG pozitifliği sağlıklı popülasyona göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Sundsfjord ve arkadaşlarının aksine BKV antikor ile HIV arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Bunun dışında hasta grubunda BKV virürisi saptadığımız hastaların %85,7'sinde antikor pozitifliği saptanmıştır. BKV IgG'si negatif olan bu iki hastada ayrıca ağır lenfopeni görülmekte ve CD4 seviyeleri düşük seyretmektedir.

Silva Nali ve ark.'ları idrarda polyomavirüs atılımının incelendiği bir araştırmada HIV (+) 75 hastayı çalışmaya dahil etmişlerdir. Çalışma grubunun 49'u erkek 26'sı kadındır. Çalışmaya dahil edilen 75 kişinin 14'ünde (%18,8) idrarda BK virüs tespit edilmiştir. BKV pozitif 14 hastanın %33'ü kadın, %67'si erkektir. Çalışmada cinsiyet ile BKV virüri sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [93]. Koralic ve ark.'ları 114 HIV (+) hasta ve 120 sağlıklı donör ile yaptığı prospektif bir çalışmada; hasta grubunda virüri oranını %50,8, kontrol grubunda bu oranı %7,5 olarak bulmuştur. İki grup arasında anlamlı bir fark bulmuşlardır. HIV (+) hasta grubunda 85 erkek, 29 kadın vardır. İdrarda BK virüs saptanan 58 hastanın ise 41'i (%71) erkek, 17'si (%29) kadındır. Bu çalışmada cinsiyet ile BKV virüri sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [97]. Ledesma ve ark.'ları 78 HIV (+) hastada ve 25 sağlıklı gönüllüde BK virüsünü araştırmışlardır. Hasta grubunda 59 erkek ve 19 kadın, kontrol grubunda 11 erkek ve 14 kadın vardır. Gruplar arasında, idrarda BKV DNA sonuçları karşılaştırıldığında; hasta grubunda 45 (12 kadın, 33 erkek)) vakada,

kontrol grubunda 5 (3 kadın, 2 erkek) vakada virüri saptanmıştır. İki grup arasında anlamlı bir fark bulunmuşlardır. Yapılan çalışma sonucunda da cinsiyet ile BKV virürisi arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [94]. Hu ve ark.'ları, Güneydoğu Çin'de HIV enfekte 137 hastanın idrarında BKV prevelansını araştırmıştır. İdrarda BKV DNA pozitifliği görülen 88 (%64,2) hastanın 14'ü (%15) kadın, 74'ü (%85) erkektir. Hasta grubunda yer alan HIV (+) 16 kadının 14'ünde (%87,5) virüri görmüşlerdir. İdrarda BK virüs atılımını, kadınlarda erkeklere göre anlamlı olarak daha fazla belirlemişlerdir. Diğer çalışmaların aksine Hu ve ark.'ları cinsiyet ile BK virürisi arasında anlamlı bir fark bulunmuşlardır [98]. Bizim çalışma grubumuzda, idrarda BK virüs tespit edilen 13 hastanın 3'ü kadın (%23) 10'u erkektir (%77). Her ne kadar BKV virürisi görülen vakaların çoğu erkek hastalar olsa da; kadın ve erkeklerin oranlarını karşılaştırdığımızda, daha önce Hirsch ve arkadaşlarının transplant hastalarıyla, burada da Hu ve arkadaşlarının HIV enfekte hastalarla yaptıkları çalışmaların aksine cinsiyet ile idrarda BKV atılımı arasında anlamlı bir fark bulmadık.

Yaşlara göre HIV (+) hastalar ile BK virürisi arasındaki ilişkiyi incelediğimizde; Koralic ve ark.'ları, 114 HIV (+) hasta içeren çalışma grubunu 5 yaş aralığına bölmüşlerdir (21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70). İdrarında BKV DNA görülen hastalar en fazla %32,7 ile 41-50 yaş aralığında, en az virüri görülen yaş aralığı ise 61-70'tir. Yaş grupları ile BK DNA sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmamışlardır [97]. Silva Nali ve ark.'ları da çalışma grubunu yaşlarına göre 5 ana gruba ayırmıştır (20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 59 yaş üzeri). Virüri görülen 14 hastanın yaşlarını incelediklerinde; pozitiflik en az 20-29 yaş aralığında, en fazla ise 40-49 yaş aralığındadır ve 14 hastanın 6'sı (%42,9) bu gruptadır. Bununla birlikte 59 yaş üzerinde BKV DNA'ya rastlanmamıştır. Silva Nali ve ark.'ları da yaş ile BKV arasında anlamlı bir ilişki bulmamıştır [93]. Hu ve ark.'ları çalışmasındaki 137 hastayı yaşlarına göre 4 gruba ayırmıştır (<20, 21-40, 41-60, >60). 20 yaş altında idrarda BKV DNA pozitif vaka görülmemiştir. 21-40 yaş aralığında 54, 41-60 yaş aralığında 23, 60 yaş üzerinde ise 11 pozitiflik görülmüştür. Virüri görülen 88 hastanın %61,3'ü 21-40 yaş aralığındadır. Bununla birlikte yaş ilerledikçe pozitifliğin azalamakta olduğunu belirlemişlerdir.. Bu sonuçlara göre Hu ve ark.'ları yaş ile BKV arasında anlamlı bir fark bulmuş, ayrıca yaş ile BKV DNA pozitifliği arasında bir korelasyon yakalamışlardır [98]. HIV (+) 64 hasta ile yaptığımız çalışmada, yaşlara göre virüri

sıklığını 5 grupta incelediğimizde 0-20 yaş aralığında %25, 21-30 yaş aralığında %33, 31-40 yaş aralığında %8, 41-50 yaş aralığında %21 ve 50 yaş üzerinde %16 BKV DNA pozitifliği belirledik. En yüksek orana 31-40 yaş aralığında rastlasak da seriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık.

Ledesma ve ark.'ları, 78 HIV (+) ve 25 sağlıklı gönüllü ile yaptıkları çalışmada HIV ile BK virüs arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. HIV enfekte hastaların %57,7'sinde, sağlıklı gönüllülerin %21,7'sinde idrarda BKV DNA'ya rastlamışlardır. HIV (+) hastalarla sağlıklılar arasında BK virüsü açısından anlamlı bir fark bulmamışlardır. Sonuçları CD4 değerlerine göre gruplandırdıklarında CD4 <200 hücre/mm³ olan hastaların %11'de, CD4 değeri 200-500 hücre/mm³ olanların %31'inde ve CD4 >500 hücre/mm³ olan hastaların %57'sinde BKV DNA saptamışlardır. CD4 değerleri ile BKV sonuçları arasında ise anlamlı bir fark bulmuşlardır. Bu sebeple Ledesma ve ark.'ları CD4 değeri yüksek ama HIV viral yükü düşük hastalarda BKV pozitifliğinin artacağını öngörmüşlerdir [94]. Behzad-Behbahani ve ark.'ları, yaşları 18-80 arasında değişen üç farklı grupta polyomavirüsleri araştırmıştır. İlk grubu 63 HIV (+) hasta, ikinci grubu HIV (+) partnerlerle birlikte olan HIV (-) 10 gönüllü ve üçüncü grubu *Chlamydia* enfeksiyonu olan 258 erkek hastadan oluşturmuşlardır. Grupların idrarda BKV DNA pozitifliklerine baktığımızda; 1. Grubun %30,1'inde, 2. Grubun %30'unda ve 3. Grubun %14'ünde virüri görülmüştür. Her ne kadar virüri en fazla HIV (+) hasta grubunda görülse de; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. HIV (+) hastalardaki CD4 değeriyle BKV arasında ilişkiye baktıklarında; CD4 >200 hücre/mm³ olan hastaların %16'sında virüri saptarken, CD4 <200 hücre/mm³ olan hastaların %35'inde BKV DNA saptamışlardır. CD4 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulmasalar da CD4 ile BKV virüsü arasında düşük bir korelasyon yakalamışlardır [96]. Knowles ve ark.'ları, yaşları 20-64 arasında değişen 94 HIV (+) hasta ile yaptıkları çalışmada, idrarında BKV DNA bulunan 30 hasta (%37) saptamışlardır. Hastaların yaşları göz önüne alındığında; 35 yaş üzerindeki hastalarda, daha genç olanlara göre BKV DNA görülme oranını daha fazla bulmuşlardır ve bu yaş gruplaması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuşlardır. Hastaları, ilk grupta CD4 >200 hücre/mm³ olan 40 ve ikinci grupta CD4 <200 hücre/mm³ olan 41 hasta olarak iki gruba ayırıp idrarda BKV DNA sonuçlarını

CD4 değerlerine göre değerlendirdiklerinde; ilk grupta hastaların %22,5'inde virüriye rastlarken, ikinci grupta bu oran %51,2 olmuştur. Knowles ve ark.'ları CD4 grupları ile BK virürisi arasında anlamlı bir fark bulmuşlardır [95]. Çalışmamızda CD4 >200 hücre/mm³ olan 54 hasta, CD4 <200 hücre/mm³ olan 10 hasta vardır. CD4 değerlerine göre idrarda BKV DNA pozitifliği incelediğimizde; CD4 >200 hücre/mm³ olan hastaların %14,8'inde virüri saptarken, CD4 <200 hücre/mm³ olan hastaların %50'sinde virüri saptadık. Sonuçlarımıza göre Knowles ve arkadaşları gibi CD4 grupları ile BK virürisi arasında anlamlı bir fark bulduk. Ayrıca CD4 değerleri ile BKV viral yükü arasında düşük düzey korelasyon saptadık. Yani CD4 düzeyi azaldıkça BKV DNA pozitifliğinin artacağını öngörmekteyiz.

Maria Machado ve arkadaşları, HIV ile enfekte Brezilyalı çocuk ve ergenlerin idrarında polyomavirüsleri araştırmıştır. Yaşları 1-22 arasında değişen 116 HIV (+) hasta ve 7-16 yaş arası 40 sağlıklı gönüllü çalışmaya katılmıştır. HIV(+) grupta BK virüri sıklığı %54,3 iken sağlıklı grupta bu oran %12,5'tir. Çalışma neticesinde iki grup arasında anlamlı bir fark bulmuşlardır. Fakat HIV(+) hastaları, HIV viral yükleri 400 kopya/mL' den büyük ve küçük olmak üzere iki gruba ayırıp BKV DNA pozitifliklerine göre incelediklerinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmamışlardır. Ayrıca, HIV viral yükü > 50 kopya / mL olan hastalarda idrarda BKV DNA atılımını daha fazla görmüşlerdir [100]. Bizim çalışmamızda, idrarda BKV DNA görülen 13 hastanın 12'sinde (%92,3) HIV RNA değeri pozitifdir. Bununla birlikte HIV RNA değerlerini kantitatif olarak değerlendirdiğimizde; HIV viral yükü ile BK virürisi arasında anlamlı bir ilişki bulduk. Ayrıca HIV viral yükü ile BKV DNA sonuçları arasında pozitif bir korelasyon yakaladık. Yani HIV RNA değerleri arttıkça BKV DNA pozitifliği görülme ihtimali artmaktadır.

5.3. Ülkemizde BKV ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Ülkemizde HIV (+) hasta grubu ile BK virüs arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma henüz bir veri tabınında mevcut değildir. Fakat BKV ile ilgili yapılmış yayınlar mevcuttur. Bunlardan bazılarını ele alırsak; Rota ve arkadaşları, immunsupresif hastalarla polyomavirüslerin ilişkisini inceleyen prospektif bir çalışma yürütmüşlerdir. Transplantasyon ünitesi, erişkin nefroloji, hematoloji, ve yoğun bakım ünitelerinden toplam 115 immunsupresif hastanın yer aldığı çalışmada, idrar

örneklerinin %19,8 'inde BKV DNA'ya rastlamışlardır [101]. Kaya ve arkadaşları yaşları 7 ay-16 yaş arasında değişen hematopoetik kök hücre transplantasyonu olan 21 hastada BK virüs enfeksiyonunu araştırmıştır. 21 hastanın 10'unda (%47) BK virüsü saptamışlardır. Pozitif olan 4 kişide hemorajik sistit gelişmiştir. Bu hastaların ölçülen BKV DNA değerleri 10^8 kopya/ml'nin üzerindedir ve bunu prognostik bir gösterge olarak kabul etmişlerdir. Ayrıca hemorajik sistit gelişen hastaların 21-28 gün sonra kanında $>10^4$ kopya/ml BKV DNA saptanmıştır [102]. Mutlu ve arkadaşları, 63 kız ve 79 erkekten oluşan toplam 142 pediatrik renal transplant alıcısında BK virüsünü incelediklerinde hastaların %40,1'inde idrarda BKV DNA saptamışlardır. Plazma BKV DNA sonuçlarına baktıklarında; hastaların %20'sinde viremi görmüşlerdir ve viremiye her zaman virüri eşlik etmiştir [103]. Çolak ve arkadaşları immünespresif hastalarda polyomavirüsü araştırdıkları prospektif bir çalışmada; erişkin nefroloji, çocuk nefroloji, kemik iliği transplantasyon ünitesi, erişkin hematoloji ve çocuk hematoloji servislerinden 296 idrar ve kan numunesi toplamışlardır. Numunelerin %56'sında idrarda BKV DNA saptamışlardır. Viremiyi ise numunelerin %29.2'sinde görmüşlerdir. Sonuçlara doğrultusunda virüri ile viremi arasında anlamlı bir fark bulmuşlardır. BKV DNA pozitiflik oranlarını, örneklerin gönderildikleri kliniklere göre incelediklerinde ise aralarında anlamlı bir fark görmemişlerdir [104]. Çağlı ve arkadaşları, renal transplantasyon alıcısı 65 hastadan, transplantasyon öncesi 0. ay ve transplantasyon sonrası 3, 6 ve 12. aylarda alınan toplam 273 plazma ve idrar örneğinde ve 20 sağlıklı gönüllüden alınan plazma ve idrar örneklerinde, polyomavirüs DNA'sını PCR yöntemi ile araştırmışlardır. Transplant hastalarının idrar örneklerini incelediklerinde, BKV DNA oranlarını 0, 3, 6 ve 12. aylarda sırasıyla %26.79, %31.03, %28.57 ve %23.53 olarak bulmuşlardır. Sağlıklı kontrol grubu ile transplant hastalarının sonuçlarını karşılaştırdıklarında; transplantasyon sonrası 3. ve 6. ay idrar BKV DNA sonuçları ile kontrol grubu sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuşlardır. Bu farkı, transplantasyon sonrası 3. ve 6. ayda immünespresyonun yoğun olduğu dönemde, BKV reaktivasyonunun göstergesi olarak kabul etmişlerdir. Buldukları sonuçlara göre; tüm pozitif kantitatif değerler, polyomavirüse bağlı hastalıklar için tartışılan plazma eşik değerlerin çok altındadır ($<10^7$ kopya/mL) ve buna bağlı olarak çalışmadaki hiçbir olguda klinik, laboratuvar ve histopatoloji ile BKV nefropatisi saptamamışlardır [105].

BK virüsü, virüs replikasyonunun ilk işaretidir. Virüs replikasyonunun devam etmesiyle BKVN riski artar. Daha önceki çalışmaları baz aldığımızda virüsün BKVN'ye dönüşmesi için idrardaki viral yükün 10^7 kopya/ml eşik değerinin üzerinde olması gerekmektedir. Özellikle, böbrek ve kemik iliği transplantasyonu sonrasında gelişen immünsüpresyon nedeniyle gerçekleşen yüksek düzeydeki virüs replikasyonu ile idrarda saptanan BKV yükü 10^7 kopya/ml'nin üzerine ulaşabilmektedir. Skulratanasak ve arkadaşları Tayland'da yaptıkları bir çalışmada 173 renal transplant alıcısında BKV virüsü, viremi ve BKVN gelişimini retrospektif olarak incelemişlerdir. 173 hastanın %30,6'sında BK virüsü gelişmiştir. Virüsü görülen hastaları viremi durumuna göre gruplandırmışlardır. Birinci gruptaki 36 hastanın idrarında BKV DNA viral yükü ortalama $9,5 \times 10^6$ 'dır ve bu gruptaki hastaların hiçbirinde viremi görmemişlerdir. İkinci grupta 7 hasta vardır ve idrarda BK viral yükü ortalaması $> 2 \times 10^8$ kopya/ml, kandaki BK viral yükü ortalaması $4,7 \times 10^4$ kopya/ml'dir. Bu grupta viremi görülse de BKVN gözlememişlerdir. Üçüncü grubu oluşturan 11 hastada BKVN saptamışlardır. Hastaların idrarındaki ortalama BK viral yükleri $> 2 \times 10^8$ kopya/ml ve kanındaki ortalama BK viral yükleri $> 1,5 \times 10^5$ kopya/ml'dir. Grupların birbiri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır. Skulratanasak ve arkadaşları bu çalışmada yüksek viral yüklerin BKVN gelişimine sebep olacağını göstermiştir [106].

Chon ve arkadaşları Chicago'da yaptıkları retrospektif bir çalışmada BKV nefropatisi gelişirken, tarama aracı olarak yüksek düzey virüsün kullanıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. İnceledikleri 368 renal transplant alıcısının %59,2'sinde virüsü görmüşlerdir. Pozitif olan 216 hastanın 110'unda idrarda BK viral yükü $> 2,5 \times 10^7$ kopya/ml, geri kalanında $< 2,5 \times 10^7$ kopya/ml'dir. Virüsü görülen 216 hastanın %62,75'inde viremi görmüşlerdir. İdrardaki BK viral yükü $> 2,5 \times 10^7$ kopya/ml olan hastaların sonuçları baz alındığında viremi oranı %88'e yükselmiştir. Çalışmada idrarda BK viral yükü $> 2,5 \times 10^7$ kopya/ml olan hastaların viremi/biyopsi sonucunun pozitif olma olasılığının, idrarda BK viral yükü $< 2,5 \times 10^7$ kopya/ml olan hastalardan 50 kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışma ayrıca, transplantasyon sonrası erken dönemlerde yüksek düzeyde virüsü bulunan hastalarda, sonradan BK viremi/BKVN gelişme riskinin, virüsü olmayanlara göre 3 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir [107]. Çalışmamızda idrarda BKV DNA saptadığımız hastaların viral yükleri $3,07 \times 10^1$ ile $1,01 \times 10^5$ kopya/ml arasında

değişmektedir. Hastaların viral yükleri 10^7 kopya/ml'den düşüktür. Virüri görülen hastaların böbrek fonksiyonları incelendiğinde, hepsinin normal sınırlarda olduğunu gördük. Virüri değerleri, kabul edilen eşik değer (10^7 kopya/ml) altında olduğundan hastalarda BKVN görülmemiştir.

Funahashi ve arkadaşlarının böbrek nakli sonrası idrar ve serum örneklerinde BK virüs yükü arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada yaşları 8- 77 arasında değişen toplam 270 böbrek nakli hastası yer almaktadır. BK virüs seviyeleri, toplam 894 idrar ve serum örneğinde, PCR yöntemi kullanarak ölçmüşlerdir. BK virüs 178 idrar örneğinde ve 36 serum örneğinde tespit edilmiş, BK virüri değerleri 10^1 - 10^{10} kopya/ml aralığında, viremi değerleri ise 10^1 - 10^6 kopya/ml arasındadır. Serum viral yükü ~2-3 log ünite idrar seviyesinden düşük olarak bulmuşlardır. Ayrıca çalışmada, idrarda BK virüs yükü $\geq 10^7$ kopya/ml seviyesinde bulunduğu, serum örneğinde daha sık tespit edilebildiğini göstermişlerdir. Yapılan bu çalışma, BK virüs takibinde idrar örneğinin, erken taramada daha etkili bir sonuç verdiğini göstermektedir [108].

Brennan ve ark.'ları, yaptıkları prospektif bir çalışmada; 200 yetişkin böbrek nakli alıcısında idrar ve kan örnekleri, nakil sonrası belirli dönemlerde (16 hafta boyunca haftalık, daha sonra 5,6,9 ve 12. aylar), PCR yöntemi kullanılarak BKV DNA değerleri açısından incelenmiştir. Nakil sonrası ilk yıl sonunda 70 hastada virüri, 23 hastada ise viremi tespit etmişlerdir. Plazma örnekleri BK virüs pozitif olarak tespit edilen tüm hastaların aynı zamanda idrar örnekleri de BK virüs pozitif tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonunda, nakil sonrası ilk yıl BKV virüsünü %35, BKV viremisini ise % 11,5 olarak bulmuşlardır. Brennan ve ark.'ları sonuç olarak; BKV viremisinin, virüri yokluğunda hiçbir zaman görülmediğini, viremiye her zaman virüsün eşlik ettiğini öngörmüşlerdir [85].

BKV reaktivasyonu BK virüri ile başlar ve BK viremi ve BKVN ile sonuçlanır. BK viremi ve BKVN'nin hemen hemen her zaman saptanabilir bir virüri dönemi vardır. Kalıcı BK virüri veya yüksek düzey virüri açıkça BK viremi ve BKVAN gelişimi için erken bir belirteçtir Bu nedenle, BKV viremi ile karşılaştırıldığında, idrarda BKV'nin izlenmesi, allogreftte viral replikasyonun daha erken saptanmasına yol açabilir. Tarama testi olarak idrarda BK virüs viral yükünün ölçülmesi, nefropati

gelişme riski altındaki hastaların erken tespitini ve tedavisinin düzenlenmesi için daha etkili bir yöntemdir.

Sonuç olarak, HIV (+) hastalarda BKV IgG oranını %78,7; BKV virüsünü %20,3 bulduk. HIV enfeksiyonunda hücresel ve humoral bağışıklık etkilendikçe BKV reaktivasyonu artacak ve nefropati dışında birçok klinik tabloya sebep olacaktır. Bu çalışmada hastaların HIV viral yükü artıp, CD4 sayısı düşükçe idrarda BKV DNA görülme sıklığının arttığını gösterdik. HIV (+) hastalarda sağlıklı bireylere göre hem BKV IgG antikor pozitifliğini, hem de BKV virüsünü daha yüksek oranlarda bulduk. Bu durum immünespresif hastalarda özellikle HIV (+) bireylerde BKV enfeksiyonunun araştırılmasının önemini ortaya koymaktadır.



KAYNAKLAR

1. Major EO, Ryschkewitsch C. *Human Polyomaviruses*. Editors: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. *Manual of Clinical Microbiology*. (Klinik Mikrobiyoloji) Çeviren: Parlak Ü. Cilt 2, 9.baskı, ASM Press, Washington DC 2007; 1612-1621
2. Sriaroon, C., et al., *BK virus: Microbiology, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations and treatment*. Asian Biomedicine, 2010. 4: p. 3-18.
3. Siguiet, M., P. Sellier, and J.F. Bergmann, *BK-virus infections: a literature review*. Med Mal Infect, 2012. 42(5): p. 181-7.
4. (Lesprit P, Chaline-Lehmann D, Authier FJ, Ponnelle T, Gray F, Levy Y. BK virus encephalitis in a patient with AIDS and lymphoma. AIDS. 2001;15(9):1196-1199. doi:10.1097/00002030-200106150-00026)
5. Akazawa Y, Terada Y, Yamane T, et al. Fatal BK virus pneumonia following stem cell transplantation. Transpl Infect Dis. 2012;14(6):E142-E146. doi:10.1111/tid.12011
6. Kilham, L., *Isolation in suckling mice of a virus from C3H mice harboring Bittner milk agent*. Science, 1952. 116(3015): p. 391-2.
7. Gross, L., *A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice*. Proc Soc Exp Biol Med, 1953. 83(2): p. 414-21.
8. Sweet, B.H. and M.R. Hilleman, *The vacuolating virus, S.V. 40*. Proc Soc Exp Biol Med, 1960. 105: p. 420-7.
9. Us, D., *[New, newer, newest human polyomaviruses: how far?]*. Mikrobiyol Bul, 2013. 47(2): p. 362-81.
10. Imperiale MJ, Major EO. *Polyomaviruses*. Knipe DM ve Howley PM, editörler. *Fields Virology*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. pp.2263-2298.
11. Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH. Cultivation of papovaviruses from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. Lancet. 1971;1(7712):1257-60.
12. Gardner, S.D., et al., *New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation*. Lancet, 1971. 1(7712): p. 1253-7.
13. Capobianchi, M.R., E. Giombini, and G. Rozera, *Next-generation sequencing technology in clinical virology*. Clin Microbiol Infect, 2013. 19(1): p. 15-22.
14. Allander, T., et al., *Identification of a third human polyomavirus*. J Virol, 2007. 81(8): p. 4130-6.

15. Gaynor, A.M., et al., *Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections*. PLoS Pathog, 2007. 3(5): p. e64.
16. Feng, H., et al., *Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma*. Science, 2008. 319(5866): p. 1096-100.
17. Schowalter, R.M., et al., *Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin*. Cell Host Microbe, 2010. 7(6): p. 509-15.
18. van der Meijden, E., et al., *Discovery of a new human polyomavirus associated with trichodysplasia spinulosa in an immunocompromized patient*. PLoS Pathog, 2010. 6(7): p. e1001024.
19. Scuda, N., et al., *A novel human polyomavirus closely related to the african green monkey-derived lymphotropic polyomavirus*. J Virol, 2011. 85(9): p. 4586-90.
20. Buck, C.B., et al., *Complete genome sequence of a tenth human polyomavirus*. J Virol, 2012. 86(19): p. 10887.
21. Siebrasse, E.A., et al., *Identification of MW polyomavirus, a novel polyomavirus in human stool*. J Virol, 2012. 86(19): p. 10321-6.
22. Yu, G., et al., *Discovery of a novel polyomavirus in acute diarrheal samples from children*. PLoS One, 2012. 7(11): p. e49449.
23. Lim, E.S., et al., *Discovery of STL polyomavirus, a polyomavirus of ancestral recombinant origin that encodes a unique T antigen by alternative splicing*. Virology, 2013. 436(2): p. 295-303.
24. Mishra N, Pereira M, Rhodes RH, An P, Pipas JM, Jain K, et al. *Identification of a novel polyomavirus in a pancreatic transplant recipient with retinal blindness and vasculitic myopathy*. J Infect Dis. 2014;210:1595. .
25. Johne, R., et al., *Taxonomical developments in the family Polyomaviridae*. Arch Virol, 2011. 156(9): p. 1627-34.
26. *Polyomavirus Virion Structure*. Swiss Institute of Bioinformatics 2010.
27. Cole C, Conzen SD. *Polyomaviridae: the viruses and their replication*. Eds: Knipe DM, Howley PM. *Virology 4th ed*. Lippincott Williams and Wilkins; Philadelphia: 2001; 2141-2174.
28. Cubitt, C.L., *Molecular genetics of the BK virus*. Adv Exp Med Biol, 2006. 577: p. 85-95.
29. Us D. *İnsan Polyomavirusları*. Editör: Ustaçelebi Ş. *Temel ve klinik mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, Ankara 1999; 803-806.
30. Gjoerup, O. and Y. Chang, *Update on human polyomaviruses and cancer*. Adv Cancer Res, 2010. 106: p. 1-51.
31. Low, J.A., et al., *Identification of gangliosides GD1b and GT1b as receptors for BK virus*. J Virol, 2006. 80(3): p. 1361-6.

32. Moriyama, T., et al., *Caveolar endocytosis is critical for BK virus infection of human renal proximal tubular epithelial cells*. J Virol, 2007. 81(16): p. 8552-62.
33. Sapp, M. and P.M. Day, *Structure, attachment and entry of polyoma- and papillomaviruses*. Virology, 2009. 384(2): p. 400-9.
34. Jiang, M., et al., *Early events during BK virus entry and disassembly*. J Virol, 2009. 83(3): p. 1350-8.
35. Walczak, C.P. and B. Tsai, *A PDI family network acts distinctly and coordinately with ERp29 to facilitate polyomavirus infection*. J Virol, 2011. 85(5): p. 2386-96.
36. Randhawa, P., et al., *BK Virus: Discovery, Epidemiology, and Biology*. Graft, 2002. 5.
37. Hirsch, H.H., *BK virus: opportunity makes a pathogen*. Clin Infect Dis, 2005. 41(3): p. 354-60.
38. Drachenberg, C.B., et al., *BK polyoma virus allograft nephropathy: ultrastructural features from viral cell entry to lysis*. Am J Transplant, 2003. 3(11): p. 1383-92.
39. Hirsch, H.H. and J. Steiger, *Polyomavirus BK*. Lancet Infect Dis, 2003. 3(10): p. 611-23.
40. Knowles, W.A., *Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV)*. Adv Exp Med Biol, 2006. 577: p. 19-45.
41. Ahsan, N. and K.V. Shah, *Polyomaviruses and human diseases*. Adv Exp Med Biol, 2006. 577: p. 1-18.
42. Zalona AC, Lopes GS, Schrago CG, Gonçalves RT, Zalis MG, Varella RB. *Molecular characterization of BK polyomavirus subtypes in renal transplant recipients in Brazil*. J Med Virol. 2011;83(8):1401-1405. doi:10.1002/jmv.22117
43. Yogo Y, Sugimoto C, Zhong S, Homma Y. *Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, anthropological and clinical implications*. Rev Med Virol. 2009;19(4):185-199. doi:10.1002/rmv.613
44. Gralla, J., J. Huskey, and A.C. Wiseman, *Trends in immune function assay (ImmuKnow; Cylex) results in the first year post-transplant and relationship to BK virus infection*. Nephrol Dial Transplant, 2012. 27(6): p. 2565-70.
45. Tan, C.S. and I.J. Koralnik, *Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis*. Lancet Neurol, 2010. 9(4): p. 425-37.
46. Wong, A.S., et al., *Relationship of pretransplantation polyoma BK virus serologic findings and BK viral reactivation after hematopoietic stem cell transplantation*. Clin Infect Dis, 2007. 44(6): p. 830-7.
47. Dugan, A.S., et al., *Human alpha-defensins inhibit BK virus infection by aggregating virions and blocking binding to host cells*. J Biol Chem, 2008. 283(45): p. 31125-32.

48. Ribeiro, A., et al., *Activation of innate immune defense mechanisms contributes to polyomavirus BK-associated nephropathy*. *Kidney Int*, 2012. 81(1): p. 100-11.
49. Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(2):503-528. doi:10.1128/CMR.00074-16
50. Mueller K, Schachtner T, Sattler A, et al. BK-VP3 as a new target of cellular immunity in BK virus infection. *Transplantation*. 2011;91(1):100-107. doi:10.1097/tp.0b013e3181fe1335
51. Comoli, P., H.H. Hirsch, and F. Ginevri, *Cellular immune responses to BK virus*. *Curr Opin Organ Transplant*, 2008. 13(6): p. 569-74.
52. Babel, N., H.D. Volk, and P. Reinke, *BK polyomavirus infection and nephropathy: the virus-immune system interplay*. *Nat Rev Nephrol*, 2011. 7(7): p. 399-406.
53. van Aalderen, M.C., et al., *BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response*. *Neth J Med*, 2012. 70(4): p. 172-83.
54. Costa, C. and R. Cavallo, *Polyomavirus-associated nephropathy*. *World J Transplant*, 2012. 2(6): p. 84-94.
55. Olsen, G.H., H.H. Hirsch, and C.H. Rinaldo, *Functional analysis of polyomavirus BK non-coding control region quasispecies from kidney transplant recipients*. *J Med Virol*, 2009. 81(11): p. 1959-67.
56. Luo, C., et al., *VP-1 quasispecies in human infection with polyomavirus BK*. *J Med Virol*, 2012. 84(1): p. 152-61.
57. Bratt, G., et al., *BK virus as the cause of meningoencephalitis, retinitis and nephritis in a patient with AIDS*. *Aids*, 1999. 13(9): p. 1071-5.
58. Dalianis, T. and H.H. Hirsch, *BK Polyomavirus and Transformation*, in *Cancer Associated Viruses*, E.S. Robertson, Editor. 2012, Springer US: Boston, MA. p. 419-432.
59. Bouvard, V., et al., *A review of human carcinogens--Part B: biological agents*. *Lancet Oncol*, 2009. 10(4): p. 321-2.
60. Rinaldo CH, Tylden GD, Sharma BN. The human polyomavirus BK (BKPyV): virological background and clinical implications. *APMIS*. 2013;121(8):728-745. doi:10.1111/apm.12134
61. Chittick P, Williamson JC, Ohl CA. BK virus encephalitis: case report, review of the literature, and description of a novel treatment modality. *Ann Pharmacother*. 2013;47(9):1229-1233. doi:10.1177/1060028013500646
62. Cimbaluk, D., et al., *Update on human polyomavirus BK nephropathy*. *Diagn Cytopathol*, 2009. 37(10): p. 773-9.

63. Geetha V, Rao L, Monappa V, Susmitha M, Prabhu R. Decoy cells in urine cytology: A useful clue to post-transplant polyoma virus infection. *J Cytol* 2012;29(2):133-134.
64. Flaegstad, T., et al., *BK virus infection in patients with AIDS*. *Scand J Infect Dis*, 1988. 20(2): p. 145-50.
65. Pollara CP, Corbellini S, Chiappini S, Sandrini S, De TD, Bonfanti C, Manca N. Quantitative Viral Load Measurement for BKV Infection in Renal Transplant Recipients As a Predictive Tool for BKVAN. *New Microbiol* 2011; 34: 165-71
66. Hirsch, H.H. and P. Randhawa, *BK virus in solid organ transplant recipients*. *Am J Transplant*, 2009. 9 Suppl 4: p. S136-46.
67. Hirsch HH. Polyoma and Papilloma Virus Infections after Hematopoietic Cell or Solid Organ Transplantation. *Çinde: Bowden RA, Ljungman P, Snyderman DR, editörler. Transplant Infections*. 3th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. pp.465-482.
68. Biel, S.S., et al., *Detection of human polyomaviruses in urine from bone marrow transplant patients: comparison of electron microscopy with PCR*. *Clin Chem*, 2004. 50(2): p. 306-12.
69. Nishi, S., *Polyomavirus nephropathy - recent pathological diagnostic problems and the report from the 2011 Banff meeting*. *Clin Transplant*, 2012. 26 Suppl 24: p. 9-12.
70. Bridges, B., S. Donegan, and A. Badros, *Cidofovir bladder instillation for the treatment of BK hemorrhagic cystitis after allogeneic stem cell transplantation*. *Am J Hematol*, 2006. 81(7): p. 535-7.
71. Eisen, D.P., et al., *Decreased viral load and symptoms of polyomavirus-associated chronic interstitial cystitis after intravesical cidofovir treatment*. *Clin Infect Dis*, 2009. 48(9): p. e86-8.
72. Ganguly, N., et al., *Low-dose cidofovir in the treatment of symptomatic BK virus infection in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis of an algorithmic approach*. *Transpl Infect Dis*, 2010. 12(5): p. 406-11.
73. Mackey, M.C., *Intravesicular cidofovir for the treatment of polyomavirus-associated hemorrhagic cystitis*. *Ann Pharmacother*, 2012. 46(3): p. 442-6.
74. Gardner SD. Prevalence in England of antibody to human polyomavirus (B.k.). *Br Med J*. 1973;1(5845):77-78. doi:10.1136/bmj.1.5845.77
75. Portolani M, Marzocchi A, Barbanti-Brodano G et al. *Prevalence in Italy of antibodies to a new human papovavirus*. *J Med Microbiol*. 1974;7:543-6
76. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, et al. *Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors*. *J Infect Dis*. 2009;199(6):837-846. doi:10.1086/597126

77. Us D, Hayran M, Ustacelebi S. *Yeni insan polyomavirüsleri; Farklı yaş gruplarında hemagglütinasyon inhibisyon testi ile saptanan BK virüs antikor seviyeleri.* Mikrobiyol Bul 1991; 25(2): 173-7
78. Stolt A, Sasnauskas K, Koskela P, Lehtinen M, Dillner J. Seroepidemiology of the human polyomaviruses. *J Gen Virol.* 2003;84(Pt 6):1499-1504. doi:10.1099/vir.0.18842-0
79. Engels EA, Rollison DE, Hartge P, et al. Antibodies to JC and BK viruses among persons with non-Hodgkin lymphoma. *Int J Cancer.* 2005;117(6):1013-1019. doi:10.1002/ijc.21277
80. Randhawa PS, Gupta G, Vats A, Shapiro R, Viscidi RP. *Immunoglobulin G, A, and M responses to BK virus in renal transplantation.* *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13(9):1057-1063. doi:10.1128/CVI.00114-06
81. Splendiani G. et al. *Polyoma virus BK and renal dysfunction in a transplanted population.* *Transplant Proc* 2004; 36: 713–5
82. Munoz P. et al. *Prevalence of BK virus replication among recipients of solid organ transplants.* *Clin Infect Dis.* 2005; 41: 1720-1725.
83. Doucette K et al. *Prospective Monitoring of BK Polyomavirus Infection Early Posttransplantation in non renal Solid Organ Transplant Recipients.* *Transplantation.* 2008; 85: 1733-1736
84. Barton TD, Blumberg EA, Doyle A, et al. *A prospective cross-sectional study of BK virus infection in non-renal solid organ transplant recipients with chronic renal dysfunction.* *Transpl Infect Dis.* 2006;8(2):102-107. doi:10.1111/j.1399-3062.2006.00155.x
85. Brennan DC, Agha I, Bohl DL et al. *Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporin and impact of preemptive immunosuppression reduction.* *Am J Transplant* 2005;5(3):582-94.
86. Manzano Sánchez D, Jimeno García L, Manzano Sánchez D, et al. *Renal Function Impairment in Kidney Transplantation: Importance of Early BK Virus Detection.* *Transplant Proc.* 2019;51(2):350-352. doi:10.1016/j.transproceed.2018.12.016
87. Hirsch H.H. et al. *Polyomavirus associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations.* *Transplantation* 2005; 79: 1277-1286.
88. Flores V, Rodríguez-Sánchez B, Marín-Jiménez I, Bouza E, Menchén L, Muñoz P. *Prospective study of BK virus infection in patients with inflammatory bowel disease.* *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:970528. Published 2014 Feb 13. doi:10.1155/2014/970528
89. Shenagari M, Monfared A, Eghtedari H, et al. *BK virus replication in renal transplant recipients: Analysis of potential risk factors may contribute in reactivation.* *J Clin Virol.* 2017;96:7-11. doi:10.1016/j.jcv.2017.09.004

90. Loeches B, Valerio M, Pérez M, et al. *BK virus in liver transplant recipients: a prospective study* [published correction appears in *Transplant Proc.* 2009 Jun;41(5):2006. Loeches, B [added]; Valerio, M [added] Pérez, M [added] Bañares, R [added] Ledesma, J [added] Fogeda, M [added] Salcedo, M [added] Rincón, D [added] Bouza, E [added] Muñoz, P [added] BKV Study Group of the Gregorio Marañón Hospital [added]]. *Transplant Proc.* 2009;41(3):1033-1037.
doi:10.1016/j.transproceed.2009.02.021
91. Zhong S, Zheng HY, Suzuki M, et al. *Age-related urinary excretion of BK polyomavirus by nonimmunocompromised individuals.* *J Clin Microbiol.* 2007;45(1):193-198. doi:10.1128/JCM.01645-06
92. Sundsfjord A, Flaegstad T, Flø R, et al. *BK and JC viruses in human immunodeficiency virus type 1-infected persons: prevalence, excretion, viremia, and viral regulatory regions.* *J Infect Dis.* 1994;169(3):485-490. doi:10.1093/infdis/169.3.485
93. Nali LH, Centrone Cde C, Urbano PR, et al. *High prevalence of the simultaneous excretion of polyomaviruses JC and BK in the urine of HIV-infected patients without neurological symptoms in São Paulo, Brazil.* *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2012;54(4):201-205. doi:10.1590/s0036-46652012000400004
94. Ledesma J, Muñoz P, Garcia de Viedma D, et al. *BK virus infection in human immunodeficiency virus-infected patients.* *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31(7):1531-1535. doi:10.1007/s10096-011-1474-9
95. Knowles WA, Pillay D, Johnson MA, Hand JF, Brown DW. *Prevalence of long-term BK and JC excretion in HIV-infected adults and lack of correlation with serological markers.* *J Med Virol.* 1999;59(4):474-479.
96. Behzad-Behbahani A, Klapper PE, Vallely PJ, Cleator GM, Khoo SH. *Detection of BK virus and JC virus DNA in urine samples from immunocompromised (HIV-infected) and immunocompetent (HIV-non-infected) patients using polymerase chain reaction and microplate hybridisation.* *J Clin Virol.* 2004;29(4):224-229. doi:10.1016/S1386-6532(03)00155-0
97. Karalic D, Lazarevic I, Banko A, Cupic M, Jevtovic D, Jovanovic T. *Molecular characterization of BK virus in patients infected with human immunodeficiency virus.* *Med Microbiol Immunol.* 2016;205(2):185-193. doi:10.1007/s00430-015-0439-5
98. Hu C, Huang Y, Su J, Wang M, Zhou Q, Zhu B. *The prevalence and isolated subtypes of BK polyomavirus reactivation among patients infected with human immunodeficiency virus-1 in southeastern China.* *Arch Virol.* 2018;163(6):1463-1468. doi:10.1007/s00705-018-3724-y

99. Flaegstad T, Permin H, Husebekk A, Husby G, Traavik T. *BK virus infection in patients with AIDS. Scand J Infect Dis.* 1988;20(2):145-150. doi:10.3109/00365548809032431
100. Machado DM, Fink MC, Pannuti CS, et al. *Human polyomaviruses JC and BK in the urine of Brazilian children and adolescents vertically infected by HIV. Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106(8):931-935. doi:10.1590/s0074-02762011000800006
101. Rota S, Fidan K, Bozdayı G, et al. *Yüksek Risk Altındaki Hastaların Klinik Örneklerinde BK ve JC Virus DNA Pozitifliğinin Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması [Investigation of BK and JC virus DNA positivities by real-time polymerase chain reaction in the clinical samples of patients with high risk]. Mikrobiyol Bul.* 2011;45(2):280-287.
102. Kaya, Nazlı & Bayram, Ibrahim & Seflek, Buket & Kupeli, Serhan & Ozdogru-Sagdic, Deniz & Sezgin, Gulay & Yarkin, Fugen. (2018). *Investigation of BK Virus Infections in Haematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. Klimik Dergisi* 2018; 31: 148-152 doi: 10.5152 / kd.2018.35
103. Mutlu D, Sağlık I, Koyun M, et al. *Pediyatrik renal transplant alıcılarında BK virus enfeksiyonları [BK virus infections in pediatric kidney transplant recipients]. Mikrobiyol Bul.* 2013;47(3):461-471. doi:10.5578/mb.4957
104. Çolak M, Altay A, et al. *İmmünsüprese Hastalarda Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu [Investigation of BK and JC Virus DNA Positivities by Real-Time Polymerase Chain Reaction in Immunosuppressive Patients]. Mikrobiyol Bul.* 45(1):12-21, 2015 doi:10.5222/TMCD.2015.012
105. Çağlı, ROZA Et Al. "*Detection of polyomavirus BK and JC Virus DNA with real time PCR in renal transplant recipients.*" *Flora* , 2016;21(3):116-123
106. Skulratanasak P, Mahamongkhonsawata J, Chayakulkeereeb M, Larpparisutha N, Premasathiana N, Vongwiwatana A. *BK Virus Infection in Thai Kidney Transplant Recipients: A Single-Center Experience [published correction appears in Transplant Proc. 2019 Nov;51(9):3191]. Transplant Proc.* 2018;50(4):1077-1079. doi:10.1016/j.transproceed.2018.02.047
107. Chon WJ, Aggarwal N, Kocherginsky M, Kane B, Sutor J, Josephson MA. *High-level viruria as a screening tool for BK virus nephropathy in renal transplant recipients. Kidney Res Clin Pract.* 2016;35(3):176-181. doi:10.1016/j.krcp.2016.05.005
108. Funahashi Y, Kato M, Fujita T, Tsuruta K, Inoue S, Gotoh M. *Correlation between urine and serum BK virus levels after renal transplantation. Transplant Proc.* 2014;46(2):567-569. doi:10.1016/j.transproceed.2013.11.154

EKLER

EK 1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Bu çalışmada amaç; BK virüsü olarak bilinen bir mikrobun sizin kanınızda ve idrarınızda olup olmadığının gösterilip, bu virüsün yaptığı enfeksiyonun ortaya çıkarılmasıdır.

KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için öncelikle gönüllü olmanız gerekmektedir. Araştırma grubu için; Enfeksiyon hastalıkları polikliniğinde HIV tanısı almış ve 18 yaş üzerinde olmak, kontrol grubu için; mikrobiyolojik testlerinizde HIV negatif olmak ve bağışıklık sisteminizi baskılayacak bilinen bir hastalığa sahip olmamak ve 18 yaş üzerinde olmak çalışmaya dahil edilme kriterleridir.

NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Sizin kolunuzdan 5 ml kan ve 5ml idrar örneği alınacaktır. Bu numuneler Tıbbi Mikrobiyoloji Asistanı Dr. Pelin GÜNAYDIN'a teslim edilecektir.

SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Öncelikle bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamanız gerekmektedir. Ayrıca çevresel, demografik ve hayat standartlarınız ile ilgili çeşitli sorulardan oluşan bir veri kayıt formuna cevaplamanız istenilmektedir.

Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırıcı sizi uygulama dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

KATILIMCI SAYISI NEDİR?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 96'dır.

KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre bir yıldır.

ÇALIşMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?

Bu araştırmada sizin için beklenen yararlar; vücudunuzun BK virüsü ile enfekte olup olmadığınızın araştırılacak olmasıdır.

ÇALIşMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.B.D. laboratuvarında hastalığınızın tanısını koyabilmek üzere doktorunuz tarafından idrar ve kolunuzdan alınmak üzere 5 ml kan örneği istenecektir.

Size bu araştırmada ek herhangi bir tedavi ya da işlem yapılmayacaktır. Yalnızca hastalığınızın tanısını koyabilmek üzere rutin olarak alınan kan işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, kan alınan bölgede ağrı, kızarıklık ve/veya morarma sayılabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

GEBELİK

Çalışma erişkin hasta grubunda yapılacaktır. Gebeler dâhil edilmeyecektir.

ARAŞTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİLEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu herhangi bir ilaç ya da besin yoktur.

HANGİ KOŞULLARDA ARAŞTIRMA DIŞI BIRAKILABİLİRİM?

Çalışmadan çıkmak istediğiniz takdirde çalışmadan çıkarılırsınız.

DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?

Herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.

HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?

Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda, bu durumun tedavisi sorumlu araştırmacı tarafından yapılacak, ortaya çıkan masraflar sorumlu araştırmacı Selçuk KAYA ve Pelin GÜNAYDIN tarafından karşılanacaktır. Uygulama sırasında oluşabilecek hasar size tarafımızdan tanzim edilecektir.

ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?

05354470434no.lu telefonda Pelin GÜNAYDIN'a başvurabilirsiniz.

ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŐILANACAK MIDIR?

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluŐa ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR?

Çalışmayı destekleyen kurum yoktur.

ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŞTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizinle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MIDİR?

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

ÇOCUKLARA YÖNELİK BİLGİLENDİRME

Çocuk hastalar çalışmaya dahil edilmeyecektir.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 4 (DÖRT) sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip

istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum. Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI ve SOYADI		
ADRESİ		
TEL. Veya FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI ve SOYADI		
ADRESİ		
TEL. Veya FAKS		
TARİH		

ARAşTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAşTIRMACININ		İMZASI
ADI ve SOYADI		
TARİH		

EK 2. Etik Kurul Komisyon Kararı

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	HIV POZİTİF HASTALARDA CD4 DÜZEYLERİNE GÖRE BK VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 35360 Karabağlar/İZMİR
	TELEFON	0232 245 04 38
	FAKS	0232 245 04 38
	E-POSTA	-

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Selçuk KAYA			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Ve Araştırma Hastanesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diger ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Doç. Dr. Barış KARADAŞ

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	HIV POZİTİF HASTALARDA CD4 DÜZEYLERİNE GÖRE BK VIRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI
VARSAA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

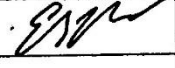
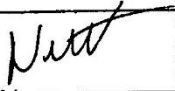
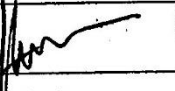
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	30.05.2019	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	30.05.2019		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	30.05.2019		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> 30.05.2019		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGİLERİ	Belge Adı	Açıklama		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> 30.05.2019		
	DIĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	<ul style="list-style-type: none"> - İlaç Dışı Klinik Araştırma İlk Başvuru Formu (19.04.2019) - Ön Bilgi Formu (30.05.2019) - Selçuk KAYA (19.04.2019), Pelin GÜNAYDIN (19.04.2019), Figen KAPTAN AYDOĞMUŞ (19.04.2019) özgeçmiş formu - Çalışma akış şeması - Araştırma Ekibini İKU VE İLU Çerçevesinde Bilgilendirme Belgesi (imza tarihi 19.04.2019) - İlaç dışı klinik araştırma başvuru formu (imza tarihi 30.05.2019) - Dünya Tıp Helsinki Bildirgesi 	
	Karar No:71	Tarih:11.07.2019		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili 25.04.2019 tarihli etik kurul toplantısında istenen düzeltmeler araştırmacılar tarafından yapılmış uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Barış KARADAŞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç. Dr. Barış KARADAŞ / Başkan	Tıbbi Farmakoloji	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Nihal OLGAC DÜNDAR / Başkan Yardımcısı	Çocuk Nörolojisi	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Servet AKAR	İç Hastalıkları/ Romatoloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Abdi SAĞCAN	Kardiyoloji	Kent Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Doç. Dr. Korhan Barış BAYRAM	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	İKÇÜ ATATÜRK EAH	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Melih Kaan SÖZMEN	Halk Sağlığı	İKÇÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	HIV POZİTİF HASTALARDA CD4 DÜZEYLERİNE GÖRE BK VIRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ	Pedodonti	İKÇÜDHF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Hatice Sabiha TÜRE	Nöroloji	İKÇÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Dr. Öğr. Üyesi Nermin TOPALOĞLU AVŞAR	Biyomedikal Mühendisliği	İKÇÜMMF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Fatma GÜLMEZOĞLU	Hukuk	İKÇÜ	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Meral DOĞRU	Sivil	İKÇÜ ATATÜRK EAH	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı

*:Toplantıda Bulunma

Doç. Dr. Barış KARADAŞ

