

2023-
ANT
ALY
A

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN
ÇOCUK HASTALARDA FİLOGENETİK ANALİZLE
KANITLANAN BK VİRÜS İLİŞKİLİ HEMORAJİK SİSTİT
SALGINININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğba Nükte TEZEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

2023-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE NAKLİ YAPILAN
ÇOCUK HASTALARDA FİLOGENETİK ANALİZLE
KANITLANAN BK VİRÜS İLİŞKİLİ HEMORAJİK SİSTİT
SALGINININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğba Nükte TEZEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Derya MUTLU

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2023-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tıbbi mikrobiyoloji yüksek lisans programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. .../...../.....

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Derya MUTLU
Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Dilek Çolak
Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr Aylin Erman Daloğlu
Antalya Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun...../...../..... tarih ve/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Tuğba Nükte TEZEL

İmza

Tez Danışmanı

Derya MUTLU

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecim boyunca beni geliştiren, destekleyen, bana yeni bakış açıları ve deneyimler katan danışman hocam Prof. Dr. Derya MUTLU'ya,

Klinik ile bağlantımızı sağlayan, işbirlikleriyle araştırmanın gerçekleşmesini mümkün kılan Prof. Dr. Alphan KÜPESİZ ve Doç. Dr. Funda KÜPESİZ'e,

Araştırmayı güçlendirecek analizler öneren ve yapan Doç. Dr. Uğur BİLGE'ye ve tüm araştırma ekibimize,

Resmi süreçler hakkında yardımcı olan Prof. Dr. Leyla SATI, Prof. Dr. Mete EYİĞÖR ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Dilara ÖĞÜNÇ'e,

Hayatım boyunca beni destekleyen, hayallerime ulaşacağıma ve bana daima inanan aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: BK virüs (BKV) kaynaklı hemorajik sistit (BKVHS) hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) sonrası hastaları etkileyen bir komplikasyondur. Bunun sebebi reaktivasyon olarak kabul edilse de son yıllarda BKV'nin nozokomiyal bulaşabileceği şüphesi uyanmıştır. Bu tezde, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'ndeki pediatrik HKHN hastaları arasında BKV nozokomiyal bulaşı araştırılmıştır.

Yöntem: Genomda viral protein (VP) 1' in, VP2'nin ve VP3'ün belirli kısımlarını içeren yaklaşık 677 baz çifti uzunluğunda yüksek değişkenlikli bir bölge Sanger dideoksinükleotit terminasyon yöntemiyle sekanslanmıştır. Sonrasında da bu bölgeden filogenetik analiz yapılmıştır.

Bulgu: Araştırmaya Temmuz 2019- Temmuz 2022 aralığında HKHN yapılan 131 pediatrik hasta dahil edilmiştir. Hastaların 23'ünde HKHN sonrası BKVHS geliştiği saptanmış olup bunların 18'i salgınla ilişkilendirilmiştir. Salgın dönemindeki BKVHS gelişen 13 ve BKVHS gelişmeyen 3 olmak üzere 16 pediatrik hasta ve aynı döneme denk gelen HKHN sonrası BKVHS gelişen 4 erişkin hasta filogenetik analize dahil edilmiştir. Hastaların tümü BKV DNA pozitif olup 17'sinde BKVHS gelişmiştir. Üç pediatrik hastada idrar pozitifliğine ve nozokomiyal bulaşa maruz kalınmasına rağmen BKVHS gelişmemiştir.

Sonuç: Sekansların hizalanması ve filogenetik analizin ardından, birbirleri ile aynı dizilere sahip 12, 3 ve 2 hastaya sahip üç ayrı küme gözlenmiştir. Bilinen kadarıyla bu, HKHN hastaları arasında görülen çok hastanın etkilendiği BKVHS salgınıdır. Ayrıca en fazla sayıda hastayı etkileyen BKV nozokomiyal bulaşı da filogenetik analiz sonucu kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: BKV, hemorajik sistit, hematopoetik kök hücre nakli

ABSTRACT

Objective: BK virus-associated hemorrhagic cystitis (BKV-HC) still remains as a life-threatening complication after Hematopoietic Stem Cell transplantation (HSCT). The origin of the virus was proposed as reactivation for a very long time and recently it is doubted to be a nosocomial transmission. In this study, we analyzed a possible nosocomial transmission of BK virus (BKV) in a pediatric HSCT clinic.

Method: A variable region encompassing partial parts of VP1, VP2 and VP3 coding sequences and approximately 677 base pairs in length was sequenced with Sanger's dideoxynucleotide determination method. Then the sequenced region was phylogenetically analyzed.

Results: All the information of 131 patients who had HSCT in Akdeniz University Hospital pediatric HSCT clinic between July 2019 and July 2022 were screened for BKV-HC. Twenty-six patients had BKV-HC and 18 of them were related to an epidemic. Twenty patients including 16 pediatric and 4 adult HSCT patients were phylogenetically investigated. All the patients had BKV DNA positivity in the urine samples and 17 of them also had BKV-HC. Although 3 patients have BKV-DNA in the urine samples, they didn't develop HC.

Conclusion: After alignment and phylogenetic analysis of the sequences, 3 clusters including 12, 3, and 2 patients having the same sequences were formed. To our knowledge, this is the biggest BKV-HC epidemic seen among HSCT patients. Also, nosocomial transmission affecting the most patients was proved with phylogenetic analysis.

Key words: BKV, hemorrhagic cystitis, hematopoietic stem cell transplantation

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. BKV'nin Tarihçesi	3
2.2. BKV'nin Taksonomisi	3
2.3. BKV' nin Genomu ve Genotipleri	4
2.3.1. BKV Genomu	4
2.3.2. BKV'nin Genotipleri	6
2.3.3. BKV'nin Onkojenik Potansiyeli	11
2.4. BKV'nin Epidemiyolojisi	12
2.4.1. BKV'nin Bulaş Yolları	12
2.4.2. Nozokomiyal Bulaş İhtimali	14
2.5. BKV'nin Tanısı	17
2.5.1. BKV Nefropatileri ile Akut Rejeksiyonun Ayrımı	22
2.6. BKV Patogenezi	23
2.6.1. Latent Dönem	24
2.7. BKV Kaynaklı Hastalıklar	25
2.7.1. Hemorajik Sistit	25

2.7.2. Nefropatiler	27
2.7.3. Neoplastik Hastalıklar	28
2.7.4. Diğer Hastalıklar	29
2.7.5. Renal Transplant Hastalarında BKV Kaynaklı Nefropatiler	29
2.7.6. Allojenik Hematopoietik Kök Hücre Nakil Hastalarında BKV Kaynaklı Nefropatiler	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Hastalar	33
3.2. İdrar Örneklerinde BKV DNA Kantitasyonu	34
3.3. İdrar Örneklerinde Eritrosit Değerlendirilmesi	34
3.4. Sekanslama Öncesi Amplifikasyon İşlemi	34
3.4.1. Ekstraksiyon	34
3.4.2. Amplifikasyon	35
3.5. Sekanslama Reaksiyonu	39
3.6. Filogenetik Analiz	39
3.7. Aminoasit Dizilerinin Değerlendirilmesi	39
3.8. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR	41
4.1. Amplikonların Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi	41

4.2. Nükleik Asit Dizilerinin İncelenmesi	42
4.3. Vaka Sayılarının Değerlendirilmesi	44
4.4. Filogenetik Analiz	46
4.5. Aminoasit Dizilerinin Analizi	48
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	58
EKLER	81
EK-1 Etik Kurul Onayı	82
EK-2 Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Cihaz Kullanım İzni	82
ÖZGEÇMİŞ	83

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	BKVN gelişimini etkileyen etkenler	27
Tablo4.1	Salgın döneminin ve öncesinin vaka sayıları	45
Tablo 4.1.	Hastaların pozitif gün sayıları	45



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil2.1	Polyomavirüslerin filogenetik ağaçta gösterimi	4
Şekil2.2.	BKV genomunun dunlop dizisi üzerinde gösterilen gen bölgeleri ve uzunlukları	5
Şekil2.3.	BKV partiküllerinin kriyojenik elektron mikroskopisi A. Virionun dıştan görünümü. B. Virionun iç yapısının ve kapsit proteinlerinin birbirine göre konumlanmasının görünümü	6
Şekil2.4.	BKV genotiplerinin coğrafi dağılımı. A. BKV genotiplerinin dağılımı, B. Genotip I'in alt tiplerinin dağılımı.	8
Şekil2.5.	BKV alt tiplerinin ve gen bankasında yer alan bazı örnek kodlarının filogenetik ağaçta gösterilmesi	9
Şekil2.6.	A. Hastaların hastanede yatış dönemleri, B. Hastalardan izole edilen BKV örneklerinin filogenetik analizi.	16
Şekil2.7.	Araştırılan bir hastanın idrarındaki decoy hücresinin papanicolaou ile boyanmış görüntüsü	18
Şekil2.8.	Hücre çekirdeğindeki polyomavirüslerin elektron mikroskopuyla görüntüsü	18

Şekil2.9	Böbrek hakil hastalarında BKV taraması ve tedavisi için önerilen algoritma	21
Şekil3.1	BKV genomunda değişkenlik gösteren bölgelerin R İstatistik Yazılımı ile görüntülenmesi	36
Şekil3.2.	BKV dunlop dizisi üzerinde gösterilen gen bölgeleri ve uzunlukları	37
Şekil4.1	Örnek jel elektroforez görüntüsü. DNA ladder (solda) ve amplikonlar	41
Şekil4.2.	OQ658751'nin forward primer kromatogramında 570. pozisyonda "Y" ile ifade edilen belirsizlik	43
Şekil4.3.	OQ658751'nin reverse primer kromatogramında 154. pozisyonda "R" ile ifade edilen belirsizlik	43
Şekil4.4.	Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde Temmuz 2019- Temmuz 2022 arasında pediatrik hastalarda HKHN sayısının ve KHN hastalarındaki BKVHS sayılarının aylık dağılımı	44
Şekil4.5.	BKV genotiplerinin ve hastalardaki BKV dizilerinin filogenetik analizle gösterilmesi	46
Şekil4.6.	VP2 ve VP3 bölgelerindeki aminoasit farklılıkları	48



SİMGELER ve KISALTMALAR

ADV	: Adenovirüs
ADVHS	: Adenovirüs kaynaklı hemorajik sistit
AKHN	: Allojenik kök hücre nakli
BKV	: BK Virüs
BKVHS	: BKV kaynaklı hemorajik sistit
BKVN	: BKV kaynaklı nefropatiler
cccDNA	: Kovalan bağlarla paketlenmiş halkasal DNA (covalently closed circular DNA)
CMV	: Sitomegalovirüs (cytomegalovirus)
ddNTP	: Dideoksinükleotit trifosfat
DNMT1	: DNA metiltransferaz enzimi 1
dNTP	: Deoksiribonükleotit trifosfat
ER	: Endoplasmik retikulum
HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü (human immunodeficiency virus)
HKHN	: Hematopoetik kök hücre nakli
HLA	: İnsan lökosit antijeni (human leukocyte antigen)
HPF	: Yüksek çözünürlüklü alan (high power field)
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (high liquid pressure chromatography)
HS	: Hemorajik sistit

IgG	: İmmünoglobulin G
JCV	: JC Virüs
KHN	: Kök hücre nakli
KYKB	: Kodlama yapmayan kontrol bölgesi (NCCR: non coding control region)
LT	: Büyük tümör antijeni (large tumor antigen)
mRNA	: Mesajcı RNA
NCBI	:Ulusal biyoteknoloji bilgi merkezi (national center for biotechnology information)
NGS	: Yeni nesil dizileme (next generation sequencing)
NPD	: Negatif prediktif değer
OPTN	: Organ tedarik ve nakil ağı (organ procurement transplant network)
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction)
PPD	: Pozitif prediktif değer
pRb	: Retinoblastoma protein
qPCR	: Kantitatif PCR
RBC	: Kırmızı kan hücresi (red blood cell)
sT	: Küçük tümör antijeni (small tumor antigen)
SV40	: Simian virüs 40
Tm	: Erime ısısı (melting temperature)
VP1	: Viral protein 1
VP2	: Viral protein 2
VP3	:Viral protein 3

1. GİRİŞ

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde Kasım 2021 tarihinden itibaren pediatrik kök hücre nakil (KHN) hastalarında BK virüs (BKV) kaynaklı hemorajik sistit (BKVHS) sayısındaki artış dikkat çekmiştir. Vaka sayıları sonraki aylarda da takip edildiğinde, Kasım 2021- Mayıs 2022 arasında ilgili klinikte BKVHS salgını olduğu düşünülmüştür. Salgının hastane kaynaklı olmasından şüphelenilerek nozokomiyal bulaş ihtimalinin filogenetik analizle araştırılması planlanmıştır. İlgili tarih aralığındaki hastaların idrar örneklerinden elde edilen BKV DNA'ların sekanslanarak filogenetik analizinin yapılmasına karar verilmiştir. İlgili tarih aralığındaki vaka sayısının, hastanenin farklı dönemlerindeki vaka sayılarından fazla olduğunun desteklemesi amacıyla Temmuz 2019- Temmuz 2022 arası KHN sonrası BKVHS geliştiren tüm pediatrik hastaların verileri incelenmiştir.

BKV'nin bulaş yolları arasında nozokomiyal bulaş gösterilmemektedir. Literatürde BKV'nin nozokomiyal bulaş şüphesinden yola çıkılarak yapılan birkaç araştırma mevcuttur. Bu araştırmaların hasta grupları KHN sonrası BKVHS geliştiren pediatrik veya yetişkin hastalardır. Koskenvuo ve ark. nozokomiyal bulaşı destekleyebilecek, uygun zaman dilimine sahip ve %100 homolog dizilere sahip yalnızca iki hasta göstermiştir. İlgili iki hastanın seronegatif olduğunun belirtilmesi, enfeksiyonun yeni edinildiğini göstermekte olup nozokomiyal bulaş ihtimalini işaret etmektedir.(Koskenvuo ve ark., 2013) Kato ve ark. ise nozokomiyal bulaşı bir hasta kümesinde dört hasta arasında gösterirken kalan kümelerdeki bazı hastalar BKVHS geliştirmelerine rağmen tanı kriterlerine uymamıştır.(Kato ve ark., 2017) Onda ve ark. ise hastaların yatış zamanları dikkate alındığında BKVHS vakalarının nozokomiyal bulaş kaynaklı olabileceğini belirtilmiştir ancak araştırmalarında BKV sekanslamamışlardır. (Onda ve ark., 2021) Hosoi ve ark. dokuz ay içerisinde HKHN sonrası BKVHS gelişen altı hastanın dördünde İc alt tipiyle enfeksiyonu ve izolatlar arası homolojinin >%99.5 olduğunu göstermiştir. (Hosoi ve ark., 2021)

Bu tez araştırmasındaki BKVHS gelişen hasta grubu literatürdeki araştırmalar arasında, şu ana dek, en çok hastanın dahil edildiği gruptur. Hem moleküler teknikler hem de filogenetik analizin dahil edilmesi araştırmayı güçlendirmiştir. BKV'nin nozokomiyal bulaşabildiğine dair güçlü kanıtlar elde edilmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

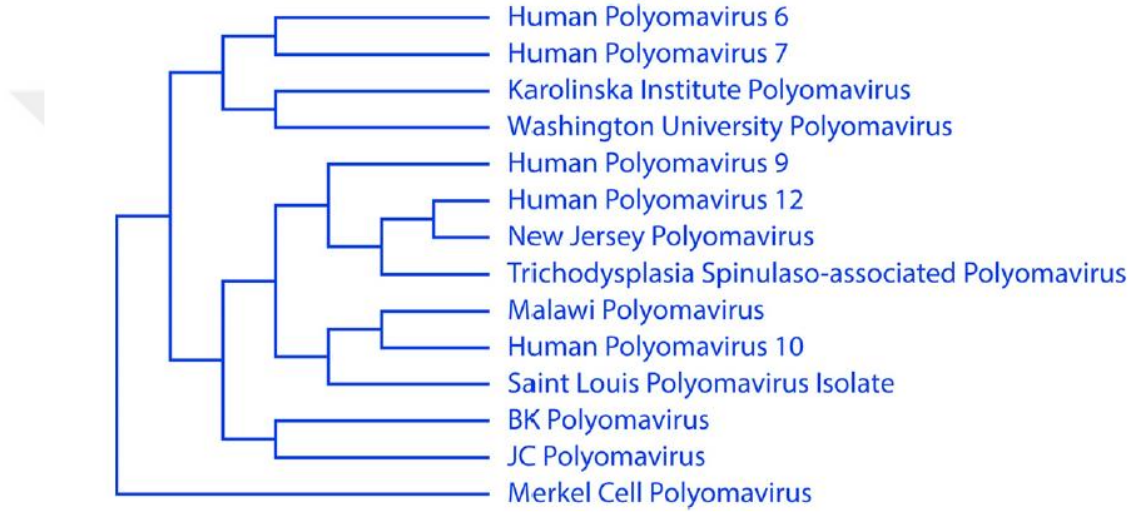
2.1. BKV'nin Tarihçesi

BK virüs (BKV) 1970 yılında keşfedilmiş bir polyomavirüstür. 17 Mayıs 1970'te Londra'da St. Mary Hastanesi'ne kronik pyelonefrit ve böbrek yetmezliği şikayetleri olan bir hasta başvurmuştur. 24 Haziran 1970 tarihinde, donörü kardeşi olacak şekilde, hastaya sol böbrek ve üreter nakli yapılmıştır. Nakil sonrası 5. ve 110. günde hastada hafif rejeksiyon atağı gelişmiş ve tedavi edilmiştir. 5 Ekim 1970'te hasta, renal grefte bağlı acı ve anüri şikayetleriyle hastaneye yeniden başvurmuştur. Işık mikrokobu ile aynı hastanın on farklı idrar örneğinde yapılan sitolojik incelemelerde epitelyal hücrelerde inklüzyonlar görülmüştür. Aynı örnekler elektron mikroskobu ile incelendiğinde 43.6 nm çapında, morfolojik olarak polyomavirüslere benzervirüs partikülleri görülmüştür. Nakil sonrası geçen zamanla birlikte bu virüs partiküllerinin antikorlarla çevrelendiği görülmüştür. İlk kez Gardner tarafından izole edilen virüsün hücre kültürleri ile yapılan çok sayıda araştırmadan sonra yeni tanımlanacak bir virüs olduğu anlaşılmış, virüs hastanın baş harfleri kullanılarak BK virüs (BKV) olarak adlandırılmıştır. (Gardner ve ark., 1971)

2.2. BKV'nin Taksonomisi

BKV, Polyomaviridae ailesine dahil bir virüstür. Latince "poly" kelimesi çok, "-oma" eki ise tümör anlamına gelmektedir. Polyomavirüsler, isimlerinden anlaşıldığı üzere onkojenik potansiyele sahip virüslerdir. (Hirsch ve Steiger, 2003) Bu konudan 2.4.3. "BKV'nin Onkojenik Potansiyeli" başlığında bahsedilmiştir. Ailenin en iyi bilinen üyeleri JC virüs (JCV), BKV ve simian virüs 40'tır (SV40). (Hirsch ve Steiger, 2003) Polyomavirus hominis 1 ve 2 aynı zamanda BKV ve JCV olarak bilinmektedir. İlk izole edildikleri hastaların baş harfleriyle adlandırılan bu iki virüsün konağı insandır. (Gardner ve ark., 1971; Padgett ve ark., 1971)

Polyomavirüslerin genetik materyallerinin çift iplikli DNA olması, ikozahedral simetriye sahip olmaları ve zarfsız olmaları ailenin ortak özelliklerindendir. BKV, ailenin diğer üyeleri ile birlikte incelendiğinde JCV genomu ile %75, SV40 genomu ile %70 oranda homologdur. (Hirsch ve Steiger, 2003) BKV ve JCV'nin, yüksek homolojileri sebebiyle, diğer polyomavirüslere kıyasla birbirlerine filogenetik olarak daha yakın olduğu Şekil2.1'deki filogenetik ağaçta görünmektedir.



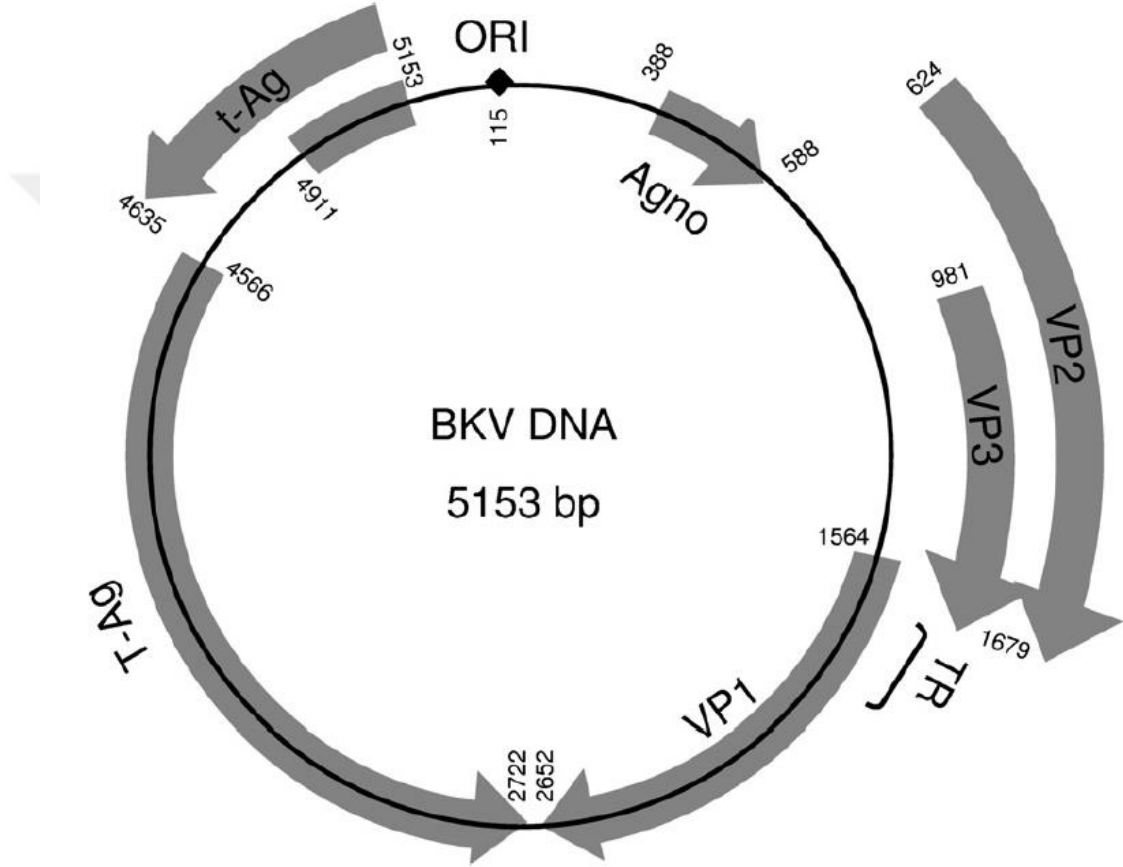
Şekil2.1. Polyomavirüslerin filogenetik ağaçta gösterimi (Ambalathingal ve ark., 2017)

2.3. BKV Genomu ve Genotipleri

2.3.1. BKV Genomu

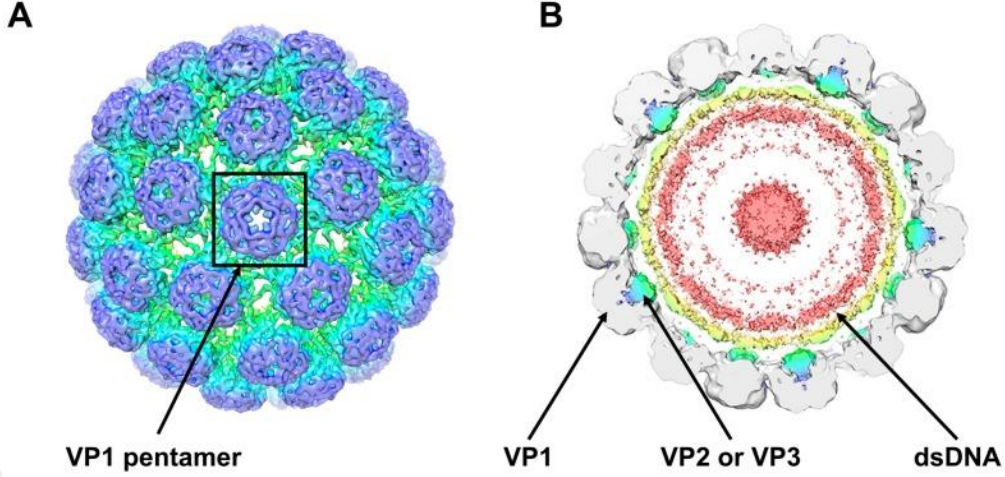
BKV genomu çift iplikli, kovalan bağlarla paketlenmiş halkasal DNA'dan (cccDNA: covalently closed circular DNA) oluşmaktadır. (Moens ve ark., 2017) Yaklaşık 5.3 kilobaz çiftinden oluşan genom, üç fonksiyonel bölgeden oluşmakta olup altı majör viral proteini kodlamaktadır. Bu bölgeler erken kodlama bölgesi, kodlama yapmayan kontrol bölgesi (KYKB, NCCR: non coding control region) ve geç kodlama bölgesidir. (Sharma ve ark., 2007; Hirsch ve Steiger, 2003) KYKB yüksek değişkenlik gösteren bir bölge olup konak hücrenin reseptörlerine bağlanmayı sağlamaktadır. (De Gascun ve Carr, 2013) Erken kodlama bölgesi, yapısal olmayan büyük tümör antijenini (LT: large T

antigen) ve küçük tümör antijenini (sT: small t antigen) kodlar. Geç kodlama bölgesi, viral kapsit proteinleri olan viral protein 1 (VP1), viral protein 2 (VP2), viral protein 3 (VP3) ve yapısal olmayan agnoproteini kodlar. Genomdaki gen bölgeleri ve uzunlukları Şekil2.2'de gösterilmiştir. (Sharma ve Zachariah, 2020)



Şekil2.2. BKV genomunun dunlop dizisi üzerinde gösterilen gen bölgeleri ve uzunlukları (Krumbholz ve ark., 2008)

VP1, kapsidi oluşturan temel yapısal proteindir. VP1 molekülleri pentamerik formda düzenlenmiştir. VP2 ve VP3'lerin her biri VP1 ile bağlantılı şekilde kapsidin iç yüzeyinde yer aldığı Şekil2.3'de görünmektedir. Geç kodlama bölgesinden eksprese edilerek sentezlenen agnoprotein kapsit yapısında yer almaz. Agnoprotein, enfekte hücreden enfeksiyöz progeni virüslerin salınmasında görev alır. (Moens ve ark., 2017) Viral proteinlerden LT ve sT ise replikasyon için gerekli proteinlerdir. (De Gascun ve Carr, 2013)



Şekil2.3.BKV partiküllerinin kriyojenik elektron mikroskopisi A. Virionun dıştan görünümü. B. Virionun iç yapısının ve kapsit proteinlerinin birbirine göre konumlanmasının görünümü (Helle ve ark., 2017)

2.3.2. BKV'nin Genotipleri

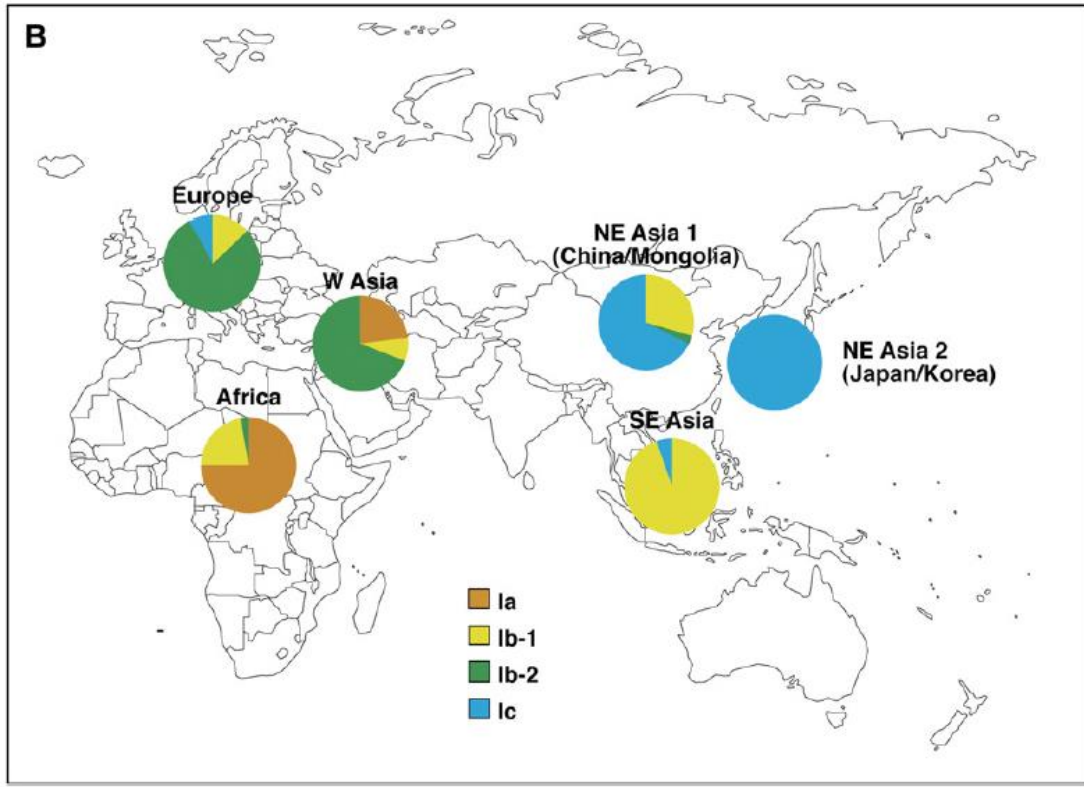
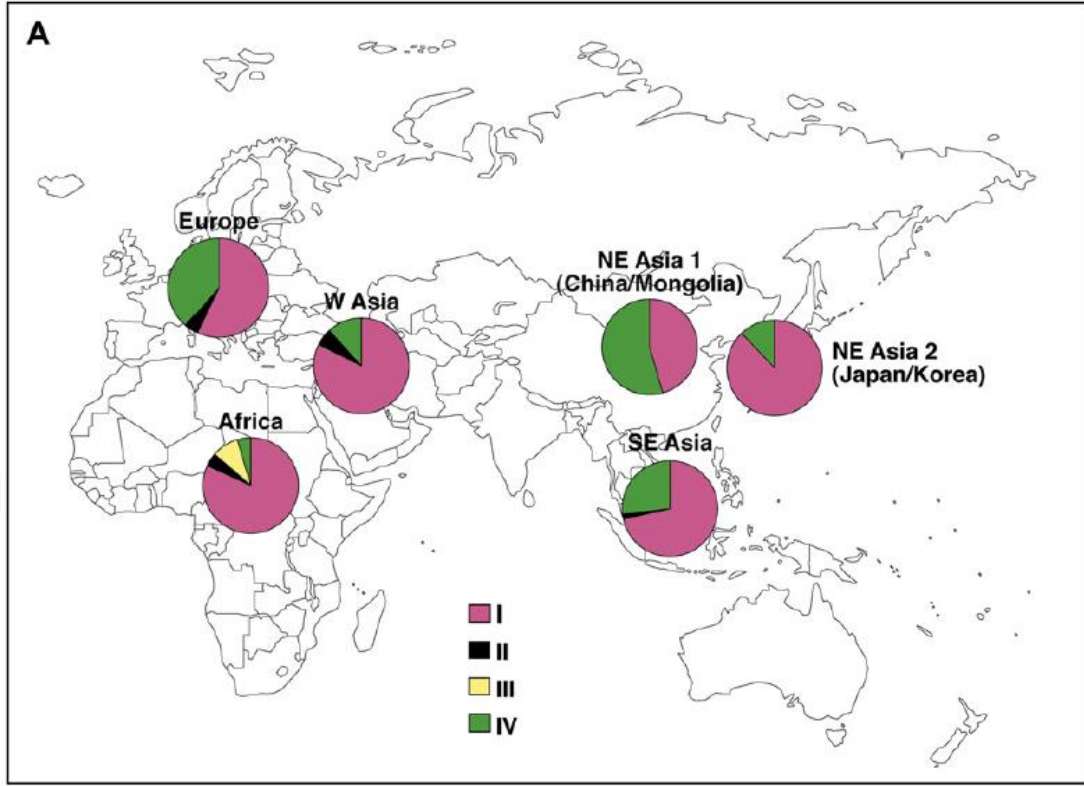
BKV'nin genotiplendirilmesi ilk kez 1993 yılında Jin ve ark. tarafından genomun VP1 kodlama bölgesindeki çeşitliliğe dayanarak yapılmıştır. (Jin ve ark., 1993) BKV, VP1 ve KYKB'deki tek nükleotit polimorfizmleriyle genotiplere ve alt tiplere ayrılmaktadır. (Imperiale, 2001) VP1 kodlama bölgesinde, genotipler arasında yüksek (%95'in üstünde) benzerlik olmasına rağmen aminoasitler arasında bu derecelerde benzerlik bulunmamaktadır. 61 ile 83 numaralı aminoasitler arası benzerlik %61–70 olarak saptanmıştır. Bu bölge, büyük olasılıkla, serolojik olarak alt tiplendirmenin yapıldığı bölgeyi kapsamaktadır. (Knowles ve ark., 1989; Jin ve ark., 1993)

Genomun geç kodlama bölgesinde yer alan VP1 kodlama bölgesi 1089 baz çifti uzunluğundadır. VP1 kodlama bölgesinin tam sekansı yapıldığında altı polimorfik bölge saptanır. VP1'e dayalı alt tiplendirmelerde bu polimorfik bölgeler kullanılmıştır. (Morel ve ark., 2017)

Temel genotipler ve alt tipler dahil olmak üzere toplam 12 BKV varyantı bulunmaktadır. BKV dört temel genotipe ayrılmıştır:genotip I,II,III,IV. Genotip I ve IV diğerlerine göre

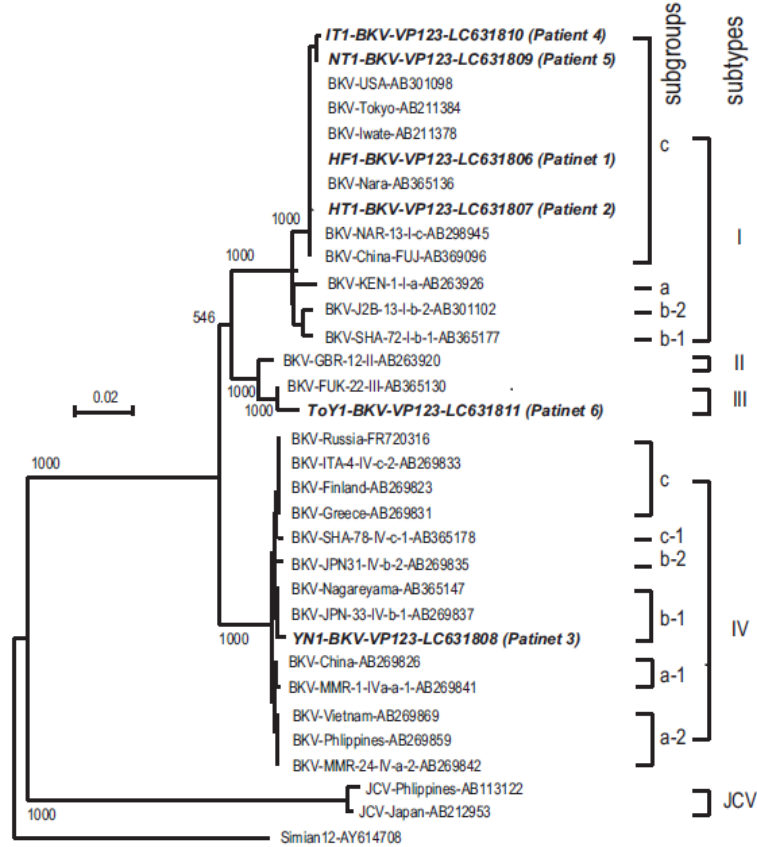
daha yaygın görüldüğünden bazı alt tiplere ayrılmıştır. Genotip I dört alt tipe ayrılır: Ia, Ib1, Ib2 ve Ic. (Jin ve ark., 1993; Morel ve ark., 2017) Genotip IV altı alt tipe ayrılır: IVa1, IVa2, IVb1, IVb2, IVc1 ve IVc2 (Ikegaya ve ark., 2006)

Dünya genelinde en yaygın görülen genotip I'dir. Genotip I'i (%80) genotip IV (%15) takip etmektedir. Genotip II ve III ise nispeten nadir görülür. (Ikegaya ve ark., 2006) Ia alt tipi Afrika'da, Ib-1 alt tipi Güney Asya'da, Ib-2 alt tipi Avrupa'da, Ic alt tipi Kuzey Asya'da yaygındır.(Morel ve ark., 2017) Genotip III çoğunlukla Afrika'da görülürken genotip IV ise Asya'da ve Avrupa'nın bazı kısımlarında görülmektedir. BKV genotipleri ve coğrafi dağılımları Şekil2.4'te gösterilmiştir. HIV koenfeksiyonu gibi etkenler enfeksiyonda ve görülen genotipte etkilidir. (Jin ve ark., 1993; Morel ve ark., 2017)



Şekil 2.4. BKV genotiplerinin coğrafi dağılımı. A. BKV genotiplerinin dağılımı, B. Genotip I'in alt tiplerinin dağılımı. (Zheng ve ark., 2007)

Genotiplendirme: BKV genomunun tümü ilk kez 1979 yılında Seif ve ark. tarafından sekanslanmıştır. (Seif ve ark., 1979) Tarihin ve teknolojinin ilerlemesiyle sekanslama daha kolay ve erişilebilir olmuştur. (Morel ve ark., 2017) Sanger sekanslamaya ek olarak yeni nesil sekanslama (NGS: next generation sekanslama) tekniğinin geliştirilmesi moleküler çalışmalara katkı sağlamıştır. (Sharma ve ark., 2016). BKV genotiplendirilmesi için Sanger sekanslama hala başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Sanger sekanslamada sıklıkla VP1 bölgesinin sekanslanması ile polimorfizmler saptanarak alt tip düzeyinde genotiplendirme yapılmaktadır. (Morel ve ark., 2017) Şekil2.5'te BKV genotiplerinin filogenetik analizi gösterilmiştir. Günümüzde Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI: National Center For Biotechnology Information) veri tabanında BKV'ye ait 4000'i aşkın nükleotit sekansı mevcuttur. (Sharma ve ark., 2016)



Şekil 2.5. BKV alt tiplerinin ve gen bankasında yer alan bazı örnek kodlarının filogenetik ağaçta gösterilmesi (Hosoi ve ark., 2021)

VP1 proteininin BC halkasındaki polimorfizmler, genotiplere özgü antikor oluşumunda önemlidir. Bu sayede bir genotipe karşı geliştirilen nötralizan antikorlardan diğer bir genotip etkilenmemektedir. VP1'in BC, DE ve HI halkaları, proteinin diğer kısımlarına göre daha kompleks yapıdadır. Luo ve ark. yaptığı çalışmada BKV'nin BC halkasındaki yüksek düzeyde varyasyon, patojenitesi artmış quasispecies ile ilişkilendirmiştir. (Pastrana ve ark., 2013; Luo ve ark., 2012)

Polyomavirüslerin viral polimerazları bulunmaz. Replikasyonda konak DNA polimerazlarını kullanırlar. (Mesters ve ark., 2006) Bu enzimin proofreading özelliği bulunmaktadır. Proofreading, replikasyon sırasında gerçekleşen yanlış nükleotit eşleşmelerini düzeltmektedir. DNA virüsleri bu sayede yüksek doğrulukla replike olurlar. DNA virüslerinin mutasyon oranının RNA virüslerinden yüz kat az olduğunu gösterilmiştir. (Drake ve Holland, 1999) Bazı viral DNA polimerazların da proofreading özelliği olduğu bilinmektedir.(Choi ve ark., 2012) Quasispecies genellikle RNA virüslerinde görülür. RNA virüslerinde sıklıkla görülen kodlama hataları bunu açıklamaktadır. (Drake ve Holland, 1999) Buna rağmen DNA virüslerinde de quasispecies görülmektedir. Luo ve ark. hem bağışıklığı baskılanmış hem de sağlıklı bireylerin idrar örneklerinde BKV quasispecies bulmuştur. Ayrıca bu çalışmada, bazı hastaların enfeksiyon sebebi olarak birden fazla genotip gösterilmiştir. Sağlıklı bireylerde de quasispecies görülmesi viral evrimi, belki de immün yanıttan kaçabilen BKV'lerin evrimini, düşündürmektedir. (Luo ve ark., 2012)

Tek nükleotit polimorfizmleri de klinik açıdan önem arz etmektedir. Bu polimorfizmler sonucu varyantın patojenitesinde, tropizminde ve hatta konağında değişikliklere sebep olabilir. (Varella ve ark., 2018) Varyantların tanımlanması, ilgili bağışıklık yanıtlarının anlaşılması, bağışıklığı baskılanmış hastalarda prognozun geliştirilmesi, ilaç ve aşı geliştirilmesi yönünden önemlidir. (Luo ve ark., 2012) BKV kaynaklı nefropatilerde (BKVN) farklı BKV genotiplerinin etkisinin varlığı/detayları henüz tam aydınlatılmamış olup genotip IV'ün daha yüksek riskli olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. (Jin ve ark., 1993; Schwarz ve ark., 2016)

2.3.3. BKV'nin Onkojenik Potansiyeli

BKV genomunda onkogenlerin bulunduğu erken kodlama bölgesinin ekspresyonu sonucu kemirgenlerden oluşturulan hücre kültürlerinde gözlenen onkojenik transformasyon, virüsün onkojenik potansiyeline dikkat çekmiştir. (Costa ve ark., 1977; Watanabe ve ark., 1982) BKV, insan hücrelerinde de transformasyona yol açabilmektedir. Theile ve Grabowski, kemirgen ve insan hücreleriyle yaptıkları çalışmada BKV'nin hücrelerde mutasyonu tetiklediği göstermiştir.(Theile ve Grabowski, 1990)

BKV genomunun erken kodlama bölgesinde iki onkogen kodlanmaktadır. Bu bölgenin ekspresyonuyla LT ve sT onkoproteinleri sentezlenir. Bu proteinler, tümör baskılayıcı genler ile etkileşime girerek hücrelerin ölümsüzleşmesine ve hücrelerde neoplastik değişikliğe yol açma potansiyeline sahiptirler. (Imperiale, 2000)

İlk 80'i ortak olmak üzere LT 695, sT 172 aminoasitten oluşan proteinlerdir. LT, viral yaşam döngüsü için önemli olmasının yanı sıra konak hücrenin tümör baskılayıcı proteinleri ile etkileşime girerek konak hücrenin kontrolsüz proliferasyonuna ve neoplastik değişikliklere neden olma özelliğine sahiptir. Konak hücrenin tümör baskılayıcı proteinlerinden en bilinenleri p53, retinoblastoma protein (pRb), p107 ve p130'dur. (Harris ve ark., 1996; Harris ve ark., 1998) LT, pRB ve p53'e bağlandığında onları deaktive ederek konak hücrenin hücre döngüsünde S evresine girmesine sebep olur.(Cicala ve ark., 1994; Whalen ve ark., 1999) LT'nin pRB'ye bağlanması hücre proliferasyonunu uyarırken p53'e bağlanması ise apoptozu engellemektedir.LT, DNA metil transferaz enzimi 1'in (DNMT1) kodlandığı gen bölgesini etkinleştirerek DNMT1 üretilmesini sağlar. DNMT1 etkinliği sonucu tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu gerçekleşir ve bu durum inaktive olmalarını kolaylaştırır. (Lavien ve ark., 2015) Mesane kanseri görülen böbrek nakil hastalarının ilgili hücrelerinde LT saptanması, BKV- karsinogenez ilişkisini güçlendirir niteliktedir. (Yin ve ark., 2015) Polyomavirüslerin isimlerini de aldıkları tümörleşme potansiyellerinin araştırıldığı, SV40'ın dahil edildiği bir çalışmada sT proteininin de transformasyonda etkili olduğu

görülmüştür. (Cicala ve ark., 1994; Whalen ve ark., 1999) LT'nin p53 ve pRB'ye bağlanırken sT'nin ise protein fosfataz 2'nin (PP2A) tümör baskılayıcı proteinine bağlanma bölgeleri bulunur. (Yu ve ark., 2001) PP2A, protein kinazlar tarafından aktifleştirilen fosforilasyon sinyallerini düzenleyen bir serin/treonin fosfatazdır. (Baysal ve ark., 1998) sT, pp2A'nın negatif regülasyonunu sağlayarak tümörögenezi tetikler. (Yu ve ark., 2001) sT, PP2A'nın katalitik (36-kDa) ve düzenleyici (63-kDa) alt birimlerine bağlandığında inaktivasyonlarını sağlayarak bu fonksiyonlarını engeller.(Rundell ve ark., 1981) Akciğer, kolon, meme kanserinde ve melanomda yapılan çalışmalar PP2A'nın tümör baskılayıcı özelliği gösterilmiştir. (Wang ve ark., 1998; Calin ve ark., 2000)

2.4. BKV Epidemiyolojisi

BKV oldukça yaygın bir virüstür. Populasyonun çoğunun BKV ile ilk karşılaşması çocukluk döneminde olmaktadır. Primer enfeksiyonların %90'ı 2-4 yaşlarında geçirilmektedir. Bunun sebebi anneden transplasental yolla alınan immünoglobulin G (IgG) antikorların zaman içerisinde azalması olarak gösterilmektedir. BKV, primer enfeksiyon ardından kişide latent kalmaktadır. (Knowles ve ark., 2003; Egli ve ark., 2009) 5-9 yaş arası çocuklarda %90'a varan seropozitivite saptanmıştır (Knowles ve ark., 2003) Ayrıca sağlıklı kan donörlerinin %10-40'ının idrarında BKV ve JCV saptanmıştır. (Egli ve ark., 2009)

2.4.1. BKV'nin Bulaş Yolları

Fekal-oral ve Üro-Oral: BKV'nin bulaş yolları arasında fekal-oral ve üro-oral bulaşlar kabul edilmektedir. BKV, idrar ve dışkı yoluyla vücuttan atılabilmektedir. Bofill-Mas ve ark. kanalizasyonlarda ve deniz suyunda fekal kontaminasyon saptamış, dışkıda ve deniz kabuğunda BKV ve bazı diğer polyomavirüslerin varlığını göstermiştir. (Bofill-Mas ve ark., 2001)

Hayvan modellerde yapılan bir çalışmada gıdayla birlikte yabancı DNA alınması halinde bu DNA'nın gastrointestinal sistemde tamamen degrade olmadığı gösterilmiştir. Schubbert ve ark. yaptıkları bu çalışma sonucunda yabancı DNA'nın bağırsak duvarından periferel dolaşımdaki lökositlere geçip, bu yolla çeşitli organlara ulaşabileceğini belirtmişlerdir. Bu ihtimal göz önünde bulundurulduğunda, BKV'nin vücuda oral yolla alındığında da enfeksiyona sebep olması olası gözükmemektedir. (Schubbert ve ark., 1997)

Solunum Sistemi Sekresyonları: Literatürde BKV'nin solunum sistemi sekresyonlarıyla ilişkisini göstererek bu bulaş yoluna dikkat çeken çalışmalar mevcuttur. Goudsmit ve ark. akut solunum rahatsızlığı olan pediatrik hastalarla yaptıkları çalışmada 12 hastanın 5'inin tonsilinde BKV DNA varlığını göstermiştir. (Goudsmit ve ark., 1982) Sundsfjord ve ark. solunumsistemi enfeksiyonuna sahip 201 çocuktan 2'sinin nazofaringeal aspirat örneğinde enfeksiyöz olmayan BKV saptamıştır.(Sundsfjord ve ark., 1994) Goudsmit ve ark. ise akut tonsillit görülen çocukların idrar örneklerinden BKV izole etmiş ve bu hastalarda BKV serokonversiyonu göstermiştir.(Goudsmit ve ark., 1981)

Transplasental ve Cinsel Yol: Hamile kadınlar, böbrek ve kemik iliği nakil hastalarına benzer şekilde genel popülasyondan düşük bağışıklığa sahiptir ve enfeksiyonlara karşı daha yüksek risk altındadır. Hamilelik süresince, vücutta latent halde bulunan virüslerin reaktivasyonunun arttığı bilinmektedir.(Coleman ve ark., 1983) Hamile kadınlarda BKV varlığı gösterilmiştir. (Coleman ve ark., 1980; Jin ve ark., 1995) Pietropaolo ve ark. sonlandırılan gebeliklerden elde edilen 15 fetüs ve plasenta örneği ile çalışmıştır. Plasenta örneklerinin %80'inde, fetal beyin örneklerinin %80'inde ve fetal böbrek örneklerinin %60'ında polimeraz zincir reaksiyonu(PCR: polymerase chain reaction) ile BKV DNA varlığı saptanmıştır.(Pietropaolo ve ark., 1998) Mazzoni ve ark. polyomavirüslerin vertikal bulaşını incelemek için kan, serum, amniyotik sıvı, vajinal smear ve kordon kanı ile çalışmıştır.Bu çalışmada ise amniyotik sıvı ve plasentalar BKV negatifken, bazı kordon kanları BKV ve JCV IgG pozitif saptanmıştır. Vajinal smear testinde BKV ve JCV DNA saptanması ise cinsel bulaş ihtimalini düşündürmektedir. (Mazzoni ve ark., 2020) Cinsel bulaş ihtimalini destekleyen bir başka çalışma Monini ve

ark. tarafından yapılmış olup, genital dokuda ve spermde yüksek BKV prevalansı gösterilmiştir. (Monini ve ark., 1996)

Kan transfüzyonu: Dolei ve ark. kan merkezinde yürüttüğü araştırmada sağlıklı donörlerden alınan kanlarda BKV KYKB taramasında %21'e, BKV VP1 taramasında %7'ye varan pozitiflik saptanmıştır. (Dolei ve ark., 2000) Lökositte BKV varlığını gösteren bir araştırmada, araştırmaya dahil edilen 40 sağlıklı kan donörünün 22'sinin periferik kan lökositlerinde (%55) BKV saptanmıştır. (Chatterjee ve ark., 2000) Bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve nakil hastalarında BKV viremi beklenmedik bir tablo değildir ancak sağlıklı bireyler için aynısı söylenemez. Sağlıklı bireylerin lenfositlerinde de BKV varlığı gösterilmesi, kan tranfüzyonu yoluyla bulaşın mümkün olabileceğini göstermektedir. (Dolei ve ark., 2000)

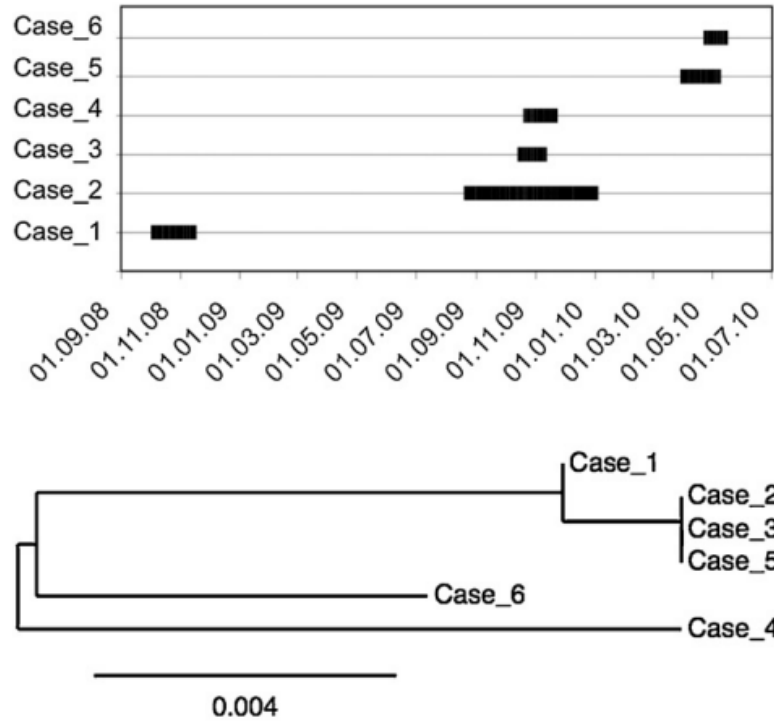
Organ nakli: BKV enfeksiyonları, genel popülasyonla kıyaslandığında böbrek ve kemik iliği nakil hastalarında sık görülmektedir. Enfeksiyon gelişim sürecinde hastaya uygulanan immünsüpresif tedavi tek olmamakla birlikte önemli bir etkidir. BKV böbrek dokusunda latent kalmaktadır. Bu göz önünde bulundurulduğunda böbrek nakillerinde donörden alıcıya olası bir bulaştan söz edilebilir. Seropozitif donörlerin, alıcılarda primer enfeksiyonu ve reaktivasyonu arttırdığı bilinmektedir. (Andrews ve ark., 1988)

2.4.2. Nozokomiyal Bulaş İhtimali

BKV zarfsız bir virüstür. Zarflı virüsler, zarfsız virüslerden duyarlıdır. Çoğu mikroorganizmanın dezenfeksiyonunu sağlayabilecek alkol, klorheksidin, benzalkolyum klorür gibi dezenfektanlar zarfsız virüsler için yetersiz kalabilmektedir. Bu yüzden BKV'nin nozokomiyal bulaşının ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır. Hastaların idrarlarındaki BKV kopya sayıları yüksekse ve eğer ki temizlik prosedürleri BKV dezenfeksiyonu için yeterli değilse nozokomiyal bulaş için uygun bir ortam oluşur. (Noda ve ark., 2000). Hastanelerde yaygın olarak kullanılabilen kuaterner amonyum

tuzu bazlı dezenfektanların da zarfsız virüslere karşı etkisiz olduğu bilinmektedir. (Gerba, 2015; Howie ve ark., 2008) Nozokomiyal bulaşın önlenmesi için ortak kullanım alanlarının ve aletlerin dezenfeksiyonunun klor bazlı dezenfektanlarla yapılması, HS hastalarının bireysel odalarının olması, hastayla ilgilenen personelin tek kullanımlık eldiven kullanması, tıbbi gereçlerin otoklavlanması önerilmektedir. (Onda ve ark., 2021)

Literatürde BKV'nin nozokomiyal bulaş ihtimalini araştıran birkaç yayın mevcuttur. Onda ve ark. hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) sonrası HS gelişen hastalarla çalışmıştır. İlgili hastalarda HS etkeni olarak en sık adenovirüs (ADV) görülmüş, bunu BKV takip etmiştir. Her iki virüs de zarfsız olup, açıklanan sebeplerden dolayı nozokomiyal bulaşa elverişlidir. Hastalarda ADV kaynaklı HS'nin, BKV kaynaklı HS'ye (BKVHS) göre daha şiddetli ve uzun sürdüğü görülmüştür. Araştırmada BKV sekanslanmamış olsa da BKVHS hastalarının hastanede yatış zamanları ve diğer veriler incelendiğinde araştırmacılar BKV için nozokomiyal bulaşın mümkün olduğu belirtilmiştir. (Onda ve ark., 2021) Koskenvuo ve ark. Helsinki Üniversitesi Çocuk Hastanesi'ndeki pediatrik hastalarla yürüttüğü çalışmada otuz ay içinde HKHN yapılan 50 hastanın 6'sında (insidans %12) BKVHS gelişmiştir. Araştırmaya dahil çocukların nakil öncesinde de farklı klinik tablolarından dolayı hasta olduğu belirtilmiştir. Bu altı vakadan beşi nozokomiyal bulaş ihtimalinin araştırılmasına elverişli ve yakın zaman diliminde görülmüştür. İki vakanın sekansları %100 özdeş çıkmış olup bu hastaların aynı varyant ile enfeksiyonu gösterilmiştir. Analiz kapsamında çizilen filogenetik ağaçta bu ikiliden aylar sonra görülen bir vaka da aynı varyantla ilişkilendirilmiştir. Bahsedilen üç örneğin filogenetik yakınlığı ve bunların ikisinin zaman dilimlerinin örtüşmesi Şekil2.5'te gösterilmiştir. Bu, BKV nozokomiyal bulaşının araştırıldığı ilk çalışmadır. (Koskenvuo ve ark., 2013)



Şekil2.6. A. Hastaların hastanede yatış dönemleri, B. Hastalardan izole edilen BKV örneklerinin filogenetik analizi. (Koskenvuo ve ark., 2013)

Kato ve ark. hematolojik rahatsızlıklarından dolayı yedisine HKHN yapılan, ikisine kemoterapi uygulanan ve tümünde BKVHS görülen erişkin hastalarla çalışmıştır. BKV genotiplendirmesi için VP1 bölgesi ile çalışılmıştır. Altı izolat BKV alt tip I'e, iki izolat alt tip IV'e ve diğer izolat farklı alt tipe ait bulunmuştur. Alt tip I'e ait altı izolatin dördü kendi içinde ve kalan ikisi de kendi içinde %100 homolog çıkmıştır. Alt tip IV'e ait izolatlarda ise %99 homoloji saptanmıştır. Dört alt tip I ve iki alt tip IV saptanan hastaların hastanede yatış zamanları incelendiğinde zamanların çakıştığı görülmüş ve bu durum BKV'nin nozokomiyal bulaş ihtimalini güçlendirmiştir. (Kato ve ark., 2017)

Hosoi ve ark. HKHN sonrası BKVHS gelişen hastaları araştırdığı çalışmada hastaların tümünün yatışlı olduğu ve banyoların ortak kullanım olduğu belirtilmiştir. Bu sebeple nozokomiyal bulaştan şüphelenilmiştir. Dokuz ay içerisinde altı hastada HKHN sonrası BKVHS gelişmiştir. Dizileme yapıldığında altı hastanın dördünde Ic alt tipi görülmüştür. İlgili dört izolatta >99.5% homoloji saptanmıştır. (Hosoi ve ark., 2021)

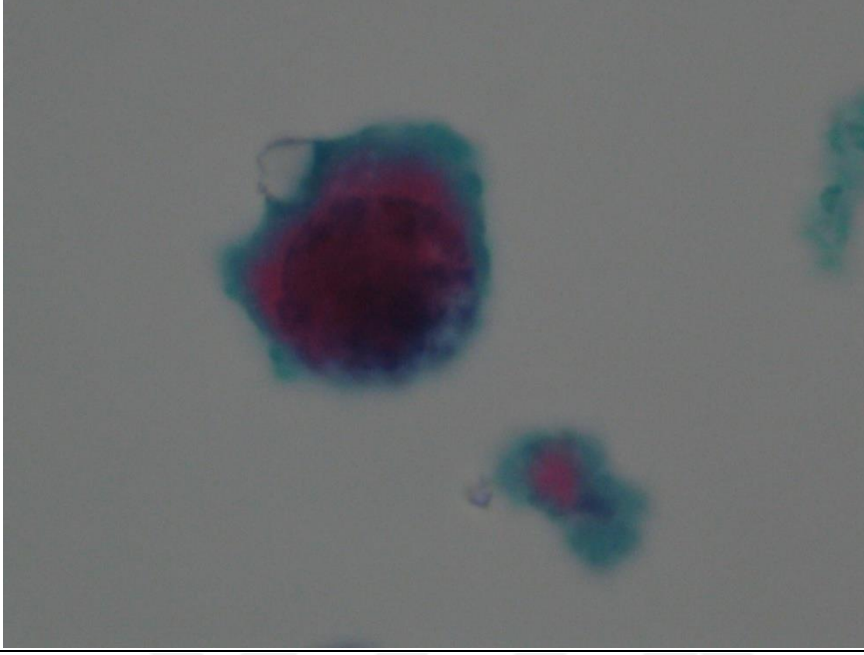
2.5. BKV Tanısı

BKV tanısında BKV DNA'nın saptanması yaygın bir yöntemdir. Tanı için en uygun örnekler plazma ve idrardır. Biyolojik örneklerde BKV DNA saptanması, yüzde yüz aktif viral replikasyonu göstermez. Saptananların, enfektif olmayan virionların DNA'sı olması da mümkündür. (Demey ve ark., 2021)

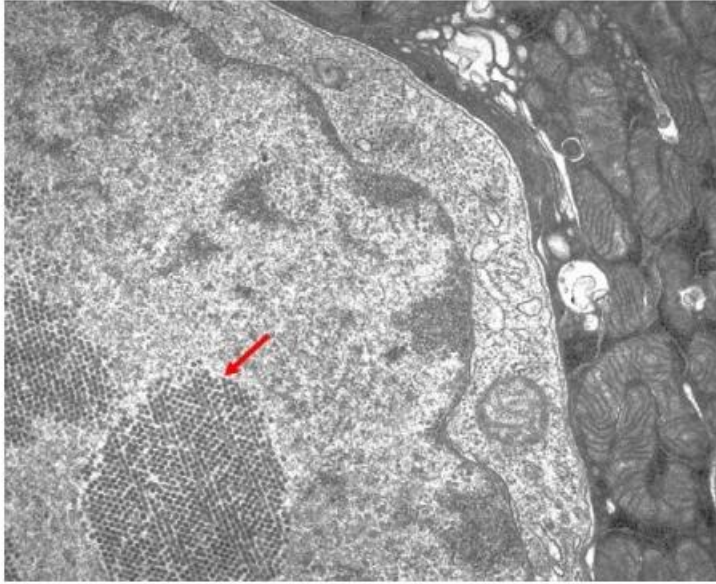
Yalnızca aktif BKV'nin saptanması için çeşitli viral mesajcı RNA (mRNA) biyobelirteçleri kullanılmaktadır. Özellikle VP1 mRNA BKV nefropatisi (BKVN) biyobelirteci olarak kullanılmakta ve bu sayede daha sağlıklı sonuçlar elde edilmektedir. (Sawinski ve Goral, 2015) Bazı durumlarda decoy hücrelerinin incelenmesi veya renal biyopsi örneği alınması da önerilmektedir.

DECOY HÜCRELERİ: BKVN hastalarının idrar sitolojisinde decoy hücreleri gözlenmektedir. Decoy hücreleri viral inklüzyonlar içerir ancak bu inklüzyonlar BKV'ye spesifik değildirler. Sitolojik incelemede BKV ile CMV enfeksiyonlarının karıştırılması mümkündür. Hücrelerin çekirdekleri bazofilik ve büyüktür. (Drachenberg ve ark., 2005) Bu hücreler, böbrek tübüler endotelyal hücrelerinden köken alır. Decoy hücrelerinin varlığı BKVN tanısı için duyarlı (%100) bir yöntem olmasına karşın pozitif prediktif değeri düşüktür (%29). (Dall ve Haniharan, 2008)

Sitolojik incelemeyle polyomavirüsler cins düzeyinde ayırt edilemez. ADV'nin sebep olduğu nefropatilerde de decoy hücreleri gözlenebilir. BKVN tablolarında da decoy hücreleri gözlenir. Bu hücreler, mikroskopik incelemeyle, polyomavirüs decoy hücrelerinden ayırt edilemez. (Drachenberg ve ark., 2005) BKV'nin Şekil2.7'de ışık, Şekil2.8'de ise elektron mikroskopuyla görüntüleri yer almaktadır.



Şekil2.7. Araştırılan bir hastanın idrarındaki decoy hücresinin papanicolaou ile boyanmış görüntüsü (Mutlu ve ark., 2006)



Şekil2.8.Hücre çekirdeğindeki polyomavirüslerin elektron mikroskopuyla görüntüsü (Sigueir ve ark., 2012)

VİRÜRİ: İdrarda BKV taraması BKVN'yi önleme açısından önem arz eder. BKV pozitif bir hastada önce virüri gelişir.(Demey ve ark., 2021) Böbrek nakil hastalarının yaklaşık %30'unda BKV virürisi görülebilir. (Wiseman, 2009) Viremi gelişirse,

genellikle virüriden birkaç hafta sonra gelişmektedir. Bu ara süreçte tübüler viral replikasyon gerçekleşmekte ve viral kopya sayısı artmaktadır. (Demey ve ark., 2021)

İdrar örnekleri sıklıkla kantitatif PCR (qPCR) ile incelenir. Virüride genel olarak yüksek kopya olarak kabul edilen sayı $>10^7$ kopya sayısı/mL'dir. (Ferreira-Gonzalez ve Sidiqi, 2007) "Decoy hücreleri" başlığı altında anlatıldığı üzere idrar sitolojik olarak da incelenebilir. Sitolojik incelemede decoy hücrelerinin varlığı beklenir. qPCR, BKV saptamada ve BKVN tanısında daha duyarlıdır. İdrar sitolojisiyle decoy hücrelerinin incelenmesinin duyarlılığı %25, spesifitesi %84; idrarın qPCR ile çalışılmasının duyarlılığı %100 ve spesifitesi %78 olarak gösterilmiştir. (Viscount ve ark., 2007) Bu oranlardaha eski bir çalışmada decoy hücre duyarlılığının %100 ve spesifitesinin %71 olduğu verileriyle çalışmaktadır. (Hirsch ve ark., 2002)

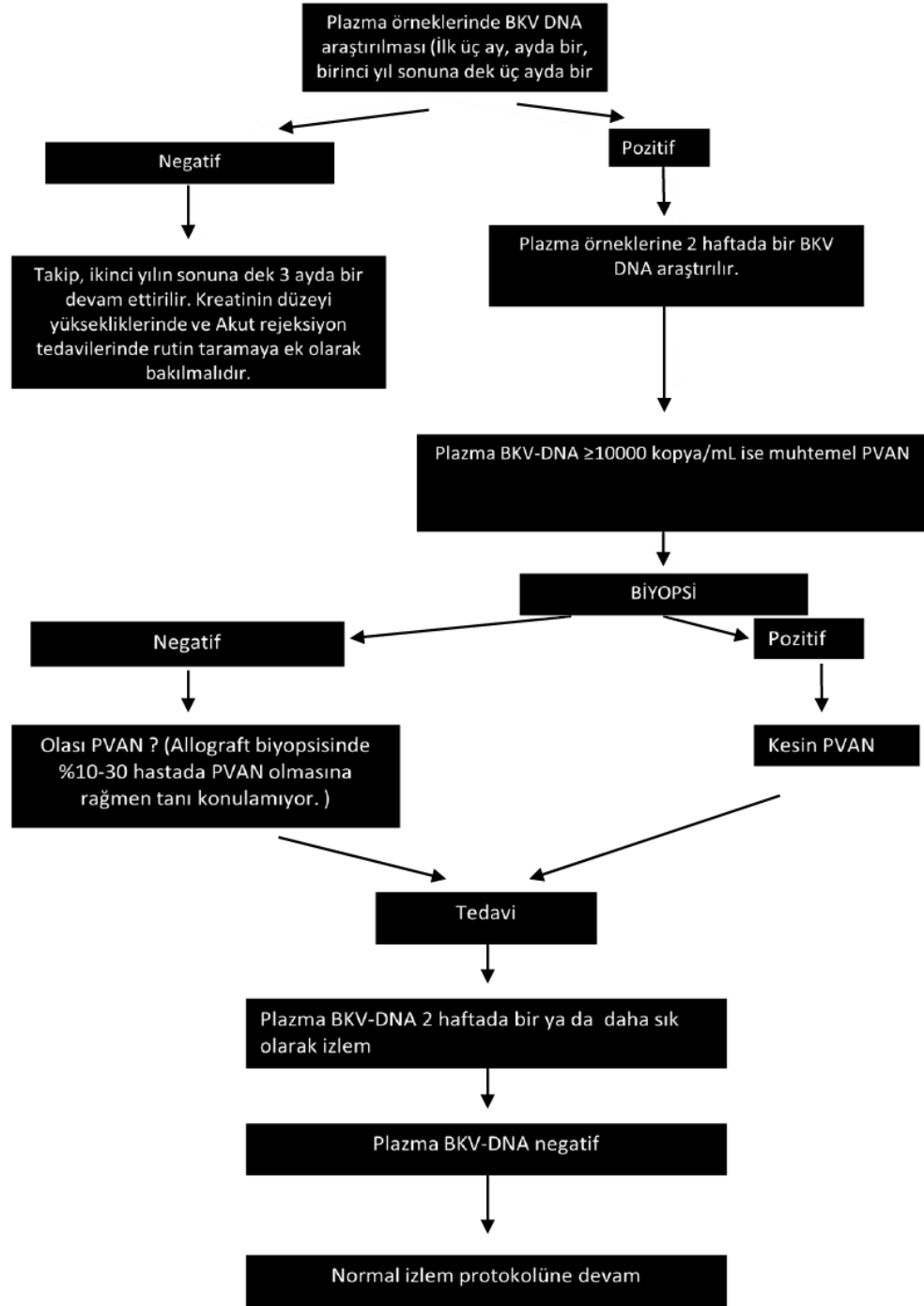
VİREMİ: Yaygın kullanılan yöntemlerden biri qPCR ile plazmada BKV DNA saptanmasıdır.(Demey ve ark., 2021) Bu yöntem oldukça duyarlı ve spesifik bir yöntemdir. Literatürde yer alan bazı araştırmalarda duyarlılığın %100'e, spesifitenin %90'a; pozitif prediktif değerin (PPD) %50'ye; negatif prediktif değerin (NPD) %100'e varabildiği gösterilmiştir. (Hirsch ve ark., 2002; Viscount ve ark., 2007) Özellikle böbrek nakli sonrası BKVN riskinin araştırılması için uygulanan bu yöntemde $>10^4$ kopya sayısı/mL yüksek değer olarak kabul edilmektedir. (Ferreira-Gonzalez ve Sidiqi, 2007)

RENAL BİYOPSİ: Ardışık üç ay boyunca decoy hücreleri mevcutsa veya idrarda üç haftadan uzun süre $\geq 10^7$ kopya/mL seyredirse renal biyopsi önerilir. (Drachenberg ve Papadimitriou, 2006) Böbrek biyopsisi, BKVN tanısının altın standardı olarak kabul edilir. (Dall ve Haniharan, 2008) Biyopsi örneği immünohistokimyasal işaretlenerek incelenebilir. İşaretlemede LT monoklonal antikorları kullanılır. Biyopsi örneği ışık mikroskopuyla da incelenebilir ancak elektron mikroskopisi daha çok detaylı sonuçlara ulaşılmasını sağlar. Elektron mikroskopisi ışık mikroskopisinden farklı olarak ADV ile

polyomavirüslerin ayrıştırılmasına imkan verse de polyomavirüsler içinde tür düzeyinde spesifik bir ayrımı sağlamayabilir. (Herrera ve ark., 2005)

Böbrek nakil hastalarında nakil sonrası ayda en az üç kez olacak şekilde iki yıl boyunca BKV taraması yapılması önerilmektedir. (Hirsch, 2002). Önerilen algoritma Şekil2.9'da açıklanmıştır.





Şekil2.9.Böbrek hakil hastalarında BKV taraması ve tedavisi için önerilen algoritma (Hirsch ve ark., 2009)

2.5.1. BKV Nefropatileri ile Akut Rejeksiyonun Ayrımı

BKVN ile nakil sonrası gelişen akut rejeksiyon tabloları arasında aralarında kesin bir ayrım yapmak zorlayıcıdır. Bu klinik tablolardan birinin tedavisi için uygulananlar diğerinin gelişim riskini arttırdığından bu ayrım oldukça önemlidir.(Sawinski ve Forde, 2015) Ayrıca bu iki tablo eş zamanlı olarak da görülebilmektedir. (Ramos E ve ark., 2009; Ito Y ve ark., 2011) BKV, sebep olduğu viremi ile de novo donöre özgü antikor oluşumunu (özellikle class II antikorları) tetikleyerek antikor aracılı rejeksiyonu artırır. (Sawinski ve Forde, 2015) Rejeksiyon geçmişi olan hastalar BKV kaynaklı hastalıklara daha yatkındır. ABO ve insan lökosit antijeni (HLA: human leukocyte antigen) uyumsuzlukları da yatkınlığı arttıran etkenlerdendir. (Awadalla ve ark., 2004; Sharif ve ark., 2012)

İki tablonun histopatolojisi benzerlik gösterir. Tipik olarak BKVN histolojisinde tübüler atrofi ve enflamatuarlı fibroz görülür. Bu, akut rejeksiyon ile karıştırılabilir. Çekirdek içi viral inklüzyonların LT pozitif boyanması BKVN için patognomotiktir. (Masutani ve ark., 2012) Histolojik incelemede sitopatik değişiklikler görülüyorsa ancak klinik şüphe devam ediyorsa ek testler talep edilir. BKVN tanısında SV40 T antikorları ile nükleer reaksiyon testleri yapılmaktadır. (Ramos E ve ark., 2009; Ito Y ve ark., 2011) immünohistokimyasal boyalarla SV40 LT antijeni kullanılarak çapraz reaksiyon testleri yapılır. Bu testler BKV ve SV40'ın aminoasit benzerliklerine dayanmaktadır. (Howell ve ark., 1999) Polyomavirüs enfeksiyonlarında B lenfositleri (CD20+) baskınken akut rejeksiyonda T lenfositleri baskın olduğu da bilinmektedir. (Herrera ve ark., 2005)

Akut rejeksiyon %0-23 oranlarıyla görülmekte olup daha sık karşılaşılan tablodur. (Schaub ve ark., 2010) Nankivell ve ark. yaptığı çalışmada BKVN gelişen ve takiben immünsüpresyon düzeyi azaltılan hastaların %50'sinde akut rejeksiyon gerçekleştiğini ve bu hastalarda greft kaybı riskinin üç kat arttığını göstermiştir. (Nankivell ve ark., 2017) Drachenberg ve ark. tarafından biyopsi örnekleriyle yapılan benzeri bir çalışmada BKVN görülen 71 hasta ile çalışılmıştır. BKVN tanısı sonrası immünsüpresif tedavi

azaltılmasına rağmen hastaların %61.9'unda akut rejeksiyon yaşanmıştır. (Dranchenberg ve ark., 2017)

2.6. BKV Patogenezi

BKV primer enfeksiyonu genellikle çocukluk döneminde ve asemptomatik geçirilir. Semptomatik ise üst solunum yolları hastalıklarına bağlı tipik semptomlar gözlenir. (Reploeg ve ark., 2001) BKV, primer enfeksiyon sonrasında genellikle böbrek dokusunda latent halde kalır. (Knowles ve ark., 2003; Egli ve ark., 2009) "2.6.1. Latent Dönem" başlığında bu konu açıklanmıştır. BKV, allojenik kök hücre nakli (AKHN) veya renal transplant sonrasında hemorajik sistite (HS) ve çeşitli BKVN'lere sebep olur. Yüksek seropozitivitesinden dolayı BKV kaynaklı hastalıkların reaktivasyondan kaynaklandığı kabul görmektedir. (Hirsch ve Randhawa, 2013) BKV reaktivasyonu sonucu virüri görülme oranı asemptomatik immünkompetan bireylerde yaklaşık %20 iken bağışıklığı baskılanmış bireylerde bu oran %20-%60'tır. (Dalianis ve Hirsch, 2013)

YAŞAM DÖNGÜSÜ: Viral yaşam döngüsünün ilk basamağı olan hücreye giriş, VP1-konak hücre etkileşimi ile başlar. (Low ve ark., 2006) Endositoz yoluyla hücreye giren BKV, mikrotübüller tarafından endoplasmik retikulum (ER) taşınır. (Moriyama ve ark., 2007; Jiang ve ark., 2009) Kapsitten ayrılma burada gerçekleşir. Serbest kalan genom, ER aracılığıyla çekirdeğe taşınır. Viral replikasyon ve erken genlerin ekspresyonu çekirdekte meydana gelir. Erken kodlama bölgesinin transkripsiyonu sonrası, replikasyon için gerekli olan LT ve sT proteinlerinin sentezlenip konak hücre çekirdeğine taşınmasıyla replikasyon öncesi hazırlıklar tamamlanır. (Abend ve ark., 2009; Chong ve ark., 2019) Replikasyon sırasında LT, multimerik bir komplekse dönüşüp helikaz gibi davranarak genomun KYKB'sinde yer alan replikasyon orijinine bağlanır. Bu bağlanmayı, yapısal proteinlerin ve agnoprotein kodlandığı geç kodlama bölgesinin transkripsiyonu takip eder. Sitoplazmada sentezlenen VP1, VP2 ve VP3'ün de çekirdeğe geçmesiyle, bu viral proteinler ve replikasyon ürünleri birleşerek çekirdekte viral progeniler oluşturmaya başlar.

(Wang ve Simmons, 2009) SV40, fare polyomavirüsü ve BKV kapsitlerini paketlerken konak hücrenin H2A, H2B, H3 ve H4 proteinlerini kullanır.(Moens ve ark., 2017) DNA replikasyonu ve yapısal proteinlerin sentezi tamamlanınca sitoplazmada viral birleşme gerçekleşir. (Jiang ve ark., 2009) Yaşam döngüsünün sonunda hücre lizisi gerçekleşir. Çekirdek zarı ve sitoplazmik zarın bütünlüğünün bozulması sonucu yeni oluşan virionlar dağılarak çevre hücreleri enfekte eder. (Drachenberg ve ark., 2005)

2.6.1. Latent Dönem

Primer enfeksiyon sonrasında BKV vücutta latent kalmaktadır. BKV'nin latent olarak kaldığı bölge çoğunlukla böbreklerdir. (Heritage ve ark., 1981) BKV'nin vücudun farklı yerlerinde de latent kaldığını gösteren araştırmalar mevcuttur. BKV'nin latent kaldığı diğer yerler arasında beyin (Vago ve ark., 1996), lökosit (Dörries ve ark., 1994), üroepitelyal hücreler, endotelyal hücreler, ependimal hücreler ve astrosit hücreleri (Dörries, 1998; Shinohara ve ark., 1993) de gösterilmiştir.

Bağışıklığın baskılandığı durumlarda virüs reaktif olabilir. Bu bağışıklık baskılanması, gerek enfeksiyon gerek ilaç tedavisi sebebiyle olabilir. İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV: human immunodeficiency virus) ile enfekte hastalarda, immünkompetan bireylerde hastalık oluşturmayan birçok patojenin, hatta bazı mikrobiyota elemanlarının bile, ciddi klinik tablolara yol açabildiği bilinmektedir. Bu hastalarda BKV reaktivasyonu da görülebilir. Nakil hastalarında, nakledilen dokunun/organın uyumunu sağlamak amacıyla immünsüpresif ajanlar kullanılmaktadır. İmmünsüpresif ajanlar sebebiyle de bağışıklık sisteminde zayıflama ve hastalıklara karşı artan risk söz konusu olmaktadır. AIDS, lenfoproliferatif hastalık tablolarına sahip ve immünsüpresif ajanların kullanıldığı hastalarda viral replikasyon ve hatta organ hasarı görülebilmektedir. (Dörries, 1998) Bağışıklık sisteminin baskılandığı ve BKV replikasyonunun olduğu dönemde idrarda BKV DNA saptanmaktadır. Bu duruma örnek olarak hamile kadınlar (Chang ve ark., 1996) ,diyabet hastaları (Kahan ve ark., 1980), yaşlılar (Kitamura ve ark., 1990) gösterilebilmektedir.

2.7. BKV Kaynaklı Hastalıklar

2.7.1. Hemorajik Sistit

Hemorajik sistit (HS), hematürinin eşlik ettiği mesane mukozası enflamasyonudur.(Randhawa ve Brennan, 2006) HS, AIDS tablosuna sahip hastalarda ve nakil hastalarında genel popülasyondan yüksek oranlarda görülmektedir. Özellikle kemik iliği nakil hastaları yüksek risk altındadır. Kemik iliği nakil hastalarında HS insidansı %5-60 arası olarak gösterilmiştir. (Arthur ve ark., 1986) Dizüri veya alt karın ağrısı gibi sistite dair klinik semptomlar, ikinci derece veya üstü hematüri ve $>10^7$ kopya sayısı/mL BKV virürisi bir arada görüldüğünde BKV kaynaklı HS'den (BKVHS) şüphelenilir. (Cesaro ve ark., 2018) Bedi ve ark. HS'yi derecelendirmiştir. Bu derecelendirmeye göre 1. derece mikroskobik hematüri, 2. derece makroskobik hematüri, 3. derece pıhtılı makroskobik hematüri, 4. derece ise pıhtılı makroskobik hematüriyi takiben renal disfonksiyona yol açan üriner obstrüksiyondur. (Bedi ve ark., 1995) BKVHS özellikle HKHN hastalarını etkileyen bir komplikasyondur.(Apperley ve ark., 1987) HKHN hastalarında nakil sonrası tedavi uygulamalarının mesane mukozasında hasara sebep olmasıyla birlikte, bastırılmakta olan bağışıklığın etkisiyle bölgede latent halde bulunan BKV'nin reaktivasyonu söz konusudur. Artan BKV replikasyonu ile BKV virürisi başlar. Engraftasyon sonrası dönemde, bağışıklık sisteminin enfekte bölgeyi etkilemesi de ürotelyal hasarı arttırmakta olup HS gelişmektedir. (Leung ve ark., 2005c)

BKV, yüksek prevalansa sahip ve latent kalan bir virüs olduğu için, sık olmasa da sağlıklı asemptomatik bireylerde virüri de görülebilir. BKVHS geliştiren hastanın kopya sayıları, asemptomatik virüriden yüksektir ve kopya sayıları klinik açıdan önem taşımaktadır. BKV DNA kopya sayısının değişiminin takibi önemlidir. Bu takip, qPCR ile VP1 bölgesi çalışılarak sağlanabilir. (Leung ve ark., 2001)

HS etkeni tek patojen BKV değildir. Pediatrik hastalarda ADV kaynaklı akut HS vakaları da görülmektedir. HKHN hastalarında nakil sonrası ADV kaynaklı HS gösteren çalışmalar bulunmaktadır. (Yamamoto ve ark., 2003; Akiyama ve ark., 2001; Miyamura ve ark., 1989) Bazı HS hastalarının idrarında CMV de saptanmaktadır. Bazı HKHN hastalarında BKV ve CMV reaktivasyonları sonucu koenfeksiyon düşünülmektedir. (Tütüncüoğlu ve ark., 2005; Spach ve ark., 1993) BKVHS için spesifik tedavi bulunmamaktadır. İmmünsüpresyonda değişikliğe gidilmesi haricinde bazı durumlarda sitozin analogu olan sidofovir kullanılır. (Cesaro ve ark., 2009)

2.7.2. Nefropatiler

BKV, yol açtığı nefropatilerle anılan bir virüstür. BKVN gelişimine sebep olan etken çoğunlukla immünsüpresyondur. Bu sebeple BKVN, en sık böbrek ve KHN hastalarında görülmektedir. Nakil hastalarına uygulanan immünsüpresyon, gerek reaktivasyon gerek yeni bir suşla enfeksiyon sonucu BKVN gelişmesi ihtimalini arttırmaktadır. (Leung ve ark., 2002)

Wang ve ark. BKV enfeksiyonu gelişmesi riskininin kadavra donörlerden yapılan nakillerde daha yüksek olduğunu göstermiştir. (Wang ve ark., 2022) BKVN gelişimine sebep olan diğer risk faktörleri ise BKV seropozitif donörden BKV seronegatif alıcıya böbrek nakli, donör ve alıcının yaşlarının yüksek olması, (Hirsch ve Randhawa, 2013) donörün ve alıcının BKV ve sitomegalovirüs (CMV:cytomegalovirus) seropozitifliği, obezite şeklinde sıralanabilir. (Borni-Duval ve ark., 2013)

BKV'nin genitoüriner epitele tropizminden dolayı genitoüriner hastalıklar gelişebilir. BKVN gelişimi hematüri, HS, üretral stenoz ve interstisyel nefrit şekillerinde olabilir. (Randhawa ve Brennan, 2006) BKV'nin sebep olduğu diğer bir nefropati olan üretral stenoz, özellikle böbrek nakil hastalarında görülen bir komplikasyondur. Klinik çalışmalarda ve hayvan modellerdeki çalışmalarda BKV kaynaklı üretral stenoz histolojik olarak kanıtlanmıştır. (Hirsch ve Steiger, 2003; van Gorder ve ark., 1999) 1629 böbrek nakil hastasıyla yapılan bir çalışmada, hastaların 52'sinde (%3.2) üretral stenoz gelişmiştir. Üretral stenoz gelişen hastaların grubun kalanından farklılıkları

araştırılınca greft fonksiyonunun geciktiği, donörlerinin yaşça büyük olduğu ve CMV koenfeksiyonu görüldüğü saptanmıştır. (Karam ve ark., 2004) Üreter stentinin BKVN riskini arttırdığını gösteren ve bu hastaların dikkatle taranmasını öneren çalışmalar da mevcuttur. (Brennan ve ark., 2005; Siparsky ve ark., 2011; Thomas ve ark., 2007)

BKVN histolojisi Banff şeması denilen sınıflandırmayla A, B ve C olmak üzere üçe ayrılmıştır. Derece A yüksek sitotoksik etkinin görüldüğü dönemdir. Genellikle renal fonksiyonda azalma gözlenmez. Bu evrede renal biyopsi örneğinde SV40 T testinde yanlış pozitiflik saptanabilir. (Ramos E ve ark., 2009; Ito Y ve ark., 2011) Bunlara ek olarak tübülointerstisyel inflamasyon da görülürse bu tablo derece B kapsamına girer. Derece C ise interstisyel fibroz ve tübüler atrofi gelişirse görülen tablodur. (Sis ve ark., 2010)

BKVN gelişiminde hastaya, nakle ve virüse bağlı çeşitli etkenler rol oynamaktadır. Bunlar Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. BKVN gelişimini etkileyen etkenler (Jandial ve ark., 2021; Hirsch ve Steiger, 2003)

Hastaya bağlı etkenler	Yaş, erkek cinsiyeti, beyaz ırk, nakil öncesi seronegatiflik, diyabet, sitopeni
Nakil ile ilgili etkenler	HLA uyum oranı, donör ile kan bağı, miyeloablative süreç, GVHD, CMV seropozitifliği, akut rejeksiyon geçmişi, iskemi
Virüse bağlı etkenler	Yüksek düzeyde viremi ve veya virüri, serotip, mutasyonlar, yeniden düzenlenmeler, bağışıklık yanıtından kaçış

2.7.3. Neoplastik Hastalıklar

BKV onkojenik bir virüstür. Neoplastik hastalıklara yol açmasına sebep olan etkenler "2.4.3. BKV'nin Onkojenik Potansiyeli" başlığı altında anlatılmıştır. Bu kısımda günümüze dek görülmüş bazı vakalardan bahsedilecektir.

BKV'nin metastatik ürotelyal karsinomda (Geetha ve ark., 2002), adenokarsinomda (Kausman ve ark., 2004) ve prostat neoplazmının erken döneminde (Das ve ark., 2004) etkili olabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Das ve ark. yaptıkları araştırmada neoplastik prostat dokularının PCR ve *in situ* hibridizasyon ile incelenmesi sonucunda örneklerin %70'inden fazlasında BKV DNA saptamıştır. (Das ve ark., 2004) Literatürde, BKV'nin hem bağışıklığı baskılanmış hem de normal bağışıklığa sahip kişilerde mesane kanserine sebep olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır. (Yin ve ark., 2015; Starett ve Buck., 2019) İnvaziv mesane kanseri insidansı BKVN gelişen böbrek alıcılarında (%4.5), BKVN gelişmeyenlere göre (% 1.7) daha yüksek bulunmuştur. Böbrek alıcılarında böbrek kanseri insidansının ise, BKVN gelişip gelişmeme durumundan bağımsız olarak, genel popülasyona göre 4.5 kat arttığı gösterilmiştir (Gupta ve ark., 2018)

Beyin tümörlerinde, pankreas tümörlerinde, lenfomada, adrenal tümörlerde, kolorektal tümörlerde ve Kaposi sarkomunda da BKV DNA gösterilmiştir. (Imperiale, 2001; Tognon ve ark., 2003; Barbanti-Brodano ve ark., 1987; Lee ve Langhoff, 2006) Corallini ve ark. 74 beyin tümörünün 19'unda, 9 pankreas adacık tümörünün 4'ünde southern blot yöntemi ile BKV DNA saptamıştır. (Corallini ve ark., 1987) Barbanti-Brodano ve ark. Uganda'dan gelen 5 kaposi sarkomu örneğinin 3'ünde southern blot yöntemiyle BKV saptarken, İtalya'dan gelen 4 kaposi sarkomu örneğinin hiçbirinde BKV saptamamıştır. (Barbanti-Brodano ve ark., 1987)

2.7.4. Diğer Hastalıklar

BKV patolojileri solunum yolunda, mesanede, böbreklerde, merkezi sinir sisteminde, gözde, sindirim kanalında ve endotelde görülebilir. BKV'nin reaktivasyon riskinin daha yüksek olduğu bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve HIV-1 ile enfekte hastalarda ensefalit, nefrit, hemorajik sistit, retinit ve pnömoni görülebilmektedir. (Vago ve ark., 1996; Lesprit ve ark., 2001)

Sandler ve ark. kemik iliği nakli yapılan bir pediatrik hastada açıklanamayan pnömoni vakasını araştırmıştır. Bu hastanın nakil öncesi ve sonrası solunum sekresyon örnekleri incelendiğinde BKV dışında hiçbir patojen bulunamamıştır. (Sandler ve ark., 1997) AIDS tablosuna sahip hastalarda gelişen bazı pnömoni vakaları da BKV replikasyonu ile ilişkilendirilmiştir. (Hirsch ve Steiger, 2003; Vallbracht ve ark., 1993)

Behzad-Behbahani ve ark. ensefalitten şüphelenilen 195 pediatrik hastanın 3'ünün (%1.5) beyin omurilik sıvısında PCR ile BKV saptanmıştır. (Behzad-Behbahani ve ark., 2003a). Benzer bir araştırmada ise viral menenjit veya ensefalitten şüphelenilen 131 erişkin hastanın 5'inin (%3.8) beyin omurilik sıvısında BKV saptanmıştır. (Behzad-Behbahani ve ark., 2003b)

Hix ve ark. delirium gelişen bir böbrek nakil hastasıyla yaptığı araştırma da BKV'nin sebep olabileceği hastalıklar yönünden dikkat çekicidir. Görüntülemeyle progresif multifokal lökoensefalopatiden şüphelenilen hastada, ilgili ajanın saptanması için beyin omurilik sıvısı incelendiğinde yalnızca BKV saptanmış, JCV de dahil olmak üzere başka enfeksiyöz ajan saptanmamıştır. (Hix ve ark., 2004)

2.7.5. Renal Transplant Hastalarında BKV Kaynaklı Nefropatiler

Renal transplant hastalarında BKV, hem primer enfeksiyonlar hem de reaktivasyonlar sonucu böbreğin kaybına kadar gidebilen BKVN'lere neden olmaktadır. Renal transplant

hastalarında BKVN insidansı %10'dur. (Park ve ark., 2018) Bu hastalarda en yaygın görülen BKVN ise hastaların %10-25'inde görülen HS'dir. (Dropulic ve Jones, 2008; Arthur ve ark.,1986) Pediatrik grupta, primer enfeksiyon olasılığının daha yüksek olması sebebiyle, BKVN'ler daha sık görülmektedir.(Smith ve ark., 2004) Transplant hastalarının immünsüpresif ilaç kullandıkları dönemde, BKV replikasyonu sonucu komplikasyonlar görülebilir. Bu hastalarda aktif replikasyon semptomları arasında virüri (%80), viremi (%10-15), ağır tübülointerstisyel nefrit (%8) görülür. (van der Meijden ve ark., 2010; Sharma ve ark., 2016)

Virüri, genellikle nakilden sonraki 10. gün ila 6. hafta arasında başlar. Nakil öncesi BKV seropozitif hastalarda ise -enfeksiyon reaktivasyon kaynaklı da olsa yeni bir varyantının edinilmesi kaynaklı da olsa- virüri, nakil sonrası 5. hafta ila 17. ay arasında başlayabilmektedir. (Gardner ve ark., 1984)

Greft kaybının sebebi BKVN olabileceği gibi immün rejeksiyon da olabilir. Transplantasyon sonrası BKV reaktivasyonunun zamanlamasında çeşitli etkenler rol oynar. Bu etkenler temel olarak kullanılan immünsüpresif ajan, donör, alıcı, virüs olarak sıralanabilir. HLA uyum düzeyi, yaş, cinsiyet, BKV seropozitivitesi, enfeksiyona sebep olan BKV genotipi bu zamanlamayı bireysel olarak farklılaştırmaktadır. Erkeklerin daha yüksek risk altında olduğu bilinmektedir. (Dall ve Haniharan, 2008; Lee ve ark., 2015) BKV reaktivasyonu genellikle idrarda BKV DNA varlığı veya idrarda decoy hücresi adı verilen enfekte üroepitelyal hücrelerin varlığı ile saptanır. (Hirsch ve ark., 2005) BKV, renal tübüllerin epitelyal hücrelerinde replike olarak lizise sebep olur. İdrarda BKV atılımı bu aşamada gerçekleşir. BKV, interstisyel hücrelerde de replike olur ve peritübüler endotelyal bariyeri geçerek kan dolaşımına katılır. (Lorant ve ark., 2022) Bazal membranın hasarı ve interstisyel boşlukta tübüler sıvı toplanmasıyla interstisyel fibroz ve tübüler atrofi görülebilir. Nefronların hasar görmesiyle, böbrek fonksiyonunu yerine getiremez hale gelebilmektedir. (van der Meijden ve ark., 2010) Greft kaybı geçmiş yıllara kıyasla azalmış olmasına rağmen hala ciddi bir klinik sorun teşkil etmektedir.(Hart ve ark., 2021) Fogaeda ve ark. pediatrik hastalarla yaptığı araştırmanın

sonucunda BKVN gelişen pediatrik renal transplant hastalarında %50'ye varan oranda greft kaybı görülebildiğini göstermiştir. (Fogeda ve ark., 2007) Organ Tedarik ve Nakil Ağı (OPTN: Organ Procurement Transplant Network) 2019'da yayımlanan yıllık raporunda kadavra donörlerden alınan böbreklerin nakledildiği hastaların %7'sinin bir yıl içerisinde akut greft rejeksiyonu yaşadığı belirtilmiştir. 5 yıllık greft ömrü hesaplarında 35-49 yaş aralığındaki -canlı donörlerden böbrek nakli yapılan- alıcılarda yaklaşık %90, 65 yaş üstü alıcılarda ise %80.2 oranında başarıya ulaşıldığı görülmüştür. (Hart ve ark., 2021)

2.7.6. Allojenik Hematopoietik Kök Hücre Nakil Hastalarında BKV Kaynaklı Nefropatiler

AKHN hastalarında en sık görülen BKV ilişkili patoloji %5-24 insidans ile HS'dir. (Koskenvuo ve ark., 2013; dela Cruz ve Pursell, 2014; Hirsch ve Pergam, 2016; Bedi ve ark., 1995)

BKVHS, ürotelyal hücrelerdeki BKV replikasyonunun sebep olduğu sitopatik hasar ve mukozal dökülme sonucu gelişir. (Leung ve ark., 2001) Bu çoğunlukla reaktivasyondan kaynaklanmaktadır. Pediatrik hastalarda primer enfeksiyon ihtimali bulunmaktadır ancak bu hastalarda da reaktivasyon görülebilmektedir. Bogdavovic ve ark. BKV seropozitif pediatrik BKVHS hastaları göstermesi reaktivasyon sebepli enfeksiyonu desteklemektedir. (Bogdanovic ve ark., 1998) Latent haldeki BKV'nin AKHN hastalarında reaktivasyonunu açıklayabilecek birkaç sebep vardır. Bu sebepler, renal transplant hastalarındaki reaktivasyonu açıklayan sebeplerle örtüşmekte olup en yaygın sebep immünsüpresif tedavidir. İmmünkompromize ve primer enfeksiyon geçirmiş bireylerde BKV risk teşkil etmez ancak bu nakil hastalarına uygulanan immünsüpresif tedavi sonucu latent haldeki virüsler enfeksiyonlara sebebiyet verebilir. Diğer bir sebep ise BKV'nin KYKB bölgesinde meydana gelen mutasyonlar veya yeniden düzenlenmelerdir. Günümüz koşullarında olası görülme de BKV'nin nakil ile donörden alıcıya aktarılması da teorik olarak mümkündür. (Leung ve ark., 2005b)

HKHN hastalarının %80'i yüksek düzeyde BKV virüsü geliştirirken yalnızca bir kısmı BKVHS geliştirmektedir. (Hirsch ve Pergam, 2016; Bedi ve ark., 1995) BKVHS genellikle 3-5 hafta sonra iyileşmektedir ancak hastalık sürecinde morbidite yüksektir. (Gilis ve ark., 2014) HKHN sonrası HS'nin mortalitede artışa neden olup olmadığına dair çelişen veriler mevcuttur. (Cesaro ve ark., 2015; Lunde ve ark., 2015; Gilis ve ark., 2014; Hirsch ve Pergam, 2016)

Otolog ve allojenik HKHN hastalarındaki miyeloablatif uygulamalar aynı olmasına rağmen otolog HKHN hastalarında BKVHS gelişimi, allojenik HKHN hastalarına göre oldukça azdır. Bu durumda nakil sonrası bağışıklık yanıtları rol oynamaktadır. Prospektif bir çalışmada otolog HKHN ve allojenik HKHN hastalarında BKV virüsü tablolarının, hastalarda gelişim oranı ve derece yönünden benzerlik gösterdiği ancak bu iki grup hastadan yalnızca allojenik HKHN grubunda HS geliştiği gösterilmiştir. (Leung ve ark., 2005a)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hastalar

1 Temmuz 2019-30 Haziran 2022 tarih aralığında Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde HKHN yapılan 131 pediatrik hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların demografik bilgilerine ve laboratuvar test sonuçlarına hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden erişilmiştir. Belirlenen BKVHS tanı kriterleri aşağıda belirtilmiştir.

BKVHS tanı kriterleri;

- En az bir idrar örneğinde $>10^7$ kopya sayısı/mL olacak şekilde BKV DNA saptanması
- BKV-DNA çalışma tarihinin en fazla 10 gün öncesi veya sonrasında yapılan idrar tetkikinde yüksek çözünürlükteki her alanda (HPF: high power field) en az 50 eritrosit saptanması (>50 kırmızı kan hücresi (RBC)/HPF ağır hematüri olarak kabul edilmektedir. (Loo ve ark., 2009).

Belirtilen tarih aralığında BKVHS tanı kriterlerine uyan 26 hasta olduğu görülmüştür. Bu hastalardan, vaka artış dönemine rastlayan, örnekleri olan, çalışmaya katılmayı kabul eden 13 ve tanı kriterlerine uymayan 3 pediatrik HKHN hastasına ait örnekler dizi analizine dahil edilmiştir. Bahsedilen üç hasta, BKVHS gelişmemesine rağmen, benzer üriner sistem şikayetleri tanımladıkları için klinik şüphe doğrultusunda BKV DNA ve eritrosit düzeyleri taranmıştır. Ayrıca 4 erişkin hastada, filogenetik analizi daha kapsamlı yapabilmek adına, mevcut 16 hastaya eklenmiştir. Erişkin hastalar da vaka artış döneminde HKHN sonrası BKVHS geliştiren hastalar arasından seçilmiştir.

Hastalar nakil sonrası en az otuz gün süreyle hepa filtreli, tek kişilik odalarda kalmıştır. Sağlık personelleri odaya girerken ellerini yıkamışlardır. Hastalar, klinik durumları

kontrol altına alındığında ve engrafman gerçekleştiğinde servis odalarına yatırılmışlardır. Servis odalarında hepa filtre bulunmamaktadır. Servis odasına giren sağlık personeli çeşitliliği ve sayısı daha fazladır. Hastanedeki yoğunluğa bağlı olarak bu odalar bazen tek kişilik olarak kullanılamayabilmektedir.

3.2. İdrar Örneklerinde BKV DNA Kantitasyonu

İdrar örnekleri çalışılana dek -20°C'de saklanmış olup, bekleme süresi 96 saati aşmamıştır. BKV DNA düzeylerinin belirlenmesi amacı ile viral nükleik asit izolasyonu QiaSypmhony SP/AS (Qiagen, Hilden- Almanya) cihazında, üretici firmanın önerileri doğrultusunda, 500 µL idrar örneğinden 90 µL elüat elde edilerek gerçekleştirilmiştir. Artus BK Virus QS-RGQ (Qiagen, Hilden- Almanya) test kitiyle de, elde edilen ekstrakt örneğinin 15 µL'si kullanılarak Rotor-Gene 5plex (Qiagen, Hilden- Almanya) cihazında gerçek zamanlı PCR yöntemi ile amplifikasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.3. İdrar Örneklerinde Eritrosit Değerlendirilmesi

İdrarlarda eritrosit değerlendirilmesi Sysmex (UN serisi, U- WAM, Japonya) cihazında yapılmaktadır. İşlem, kullanım kılavuzuna uyularak yapılmaktadır.

3.4. Sekanslama Öncesi Amplifikasyon İşlemi

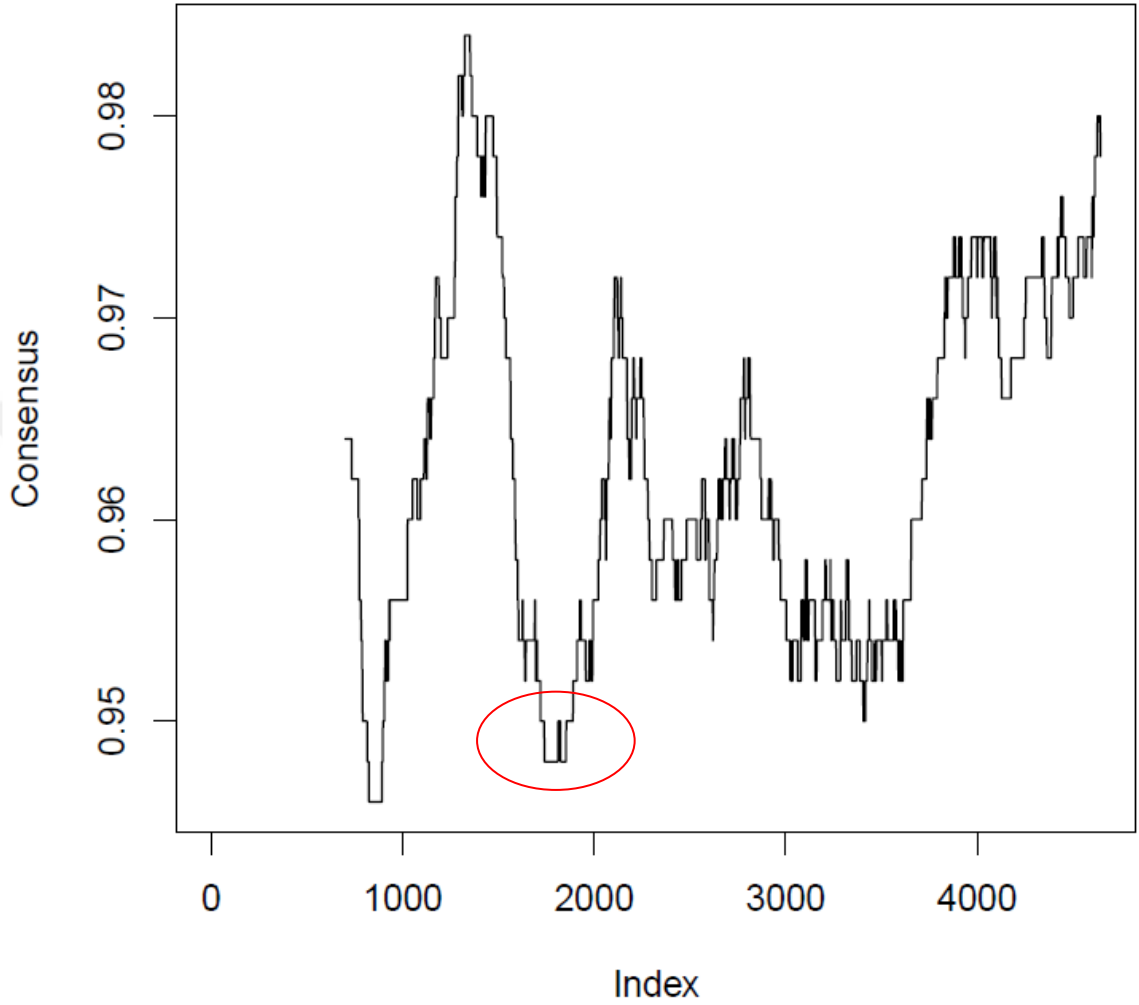
3.4.1. Ekstraksiyon

Seçilen hastaların araştırılacak örnekleri, ilgili tarih aralığında klinik tablolarında görülen ilk yüksek pozitif ($>10^7$ kopya sayısı/mL) idrar örneği olacak şekilde hastane bilgi yönetim sistemi üzerinden seçilmiştir. Örnekler, çalışılana dek Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda mevcut -80°C dondurucularda saklanmıştır.

Ekstraksiyon kiti olarak Qiamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden- Almanya) kullanılmıştır. Spin protokolü takip edilmiş olup ekstraksiyon süresince kullanım kılavuzundaki öneriler izlenmiştir.

3.4.2. Amplifikasyon

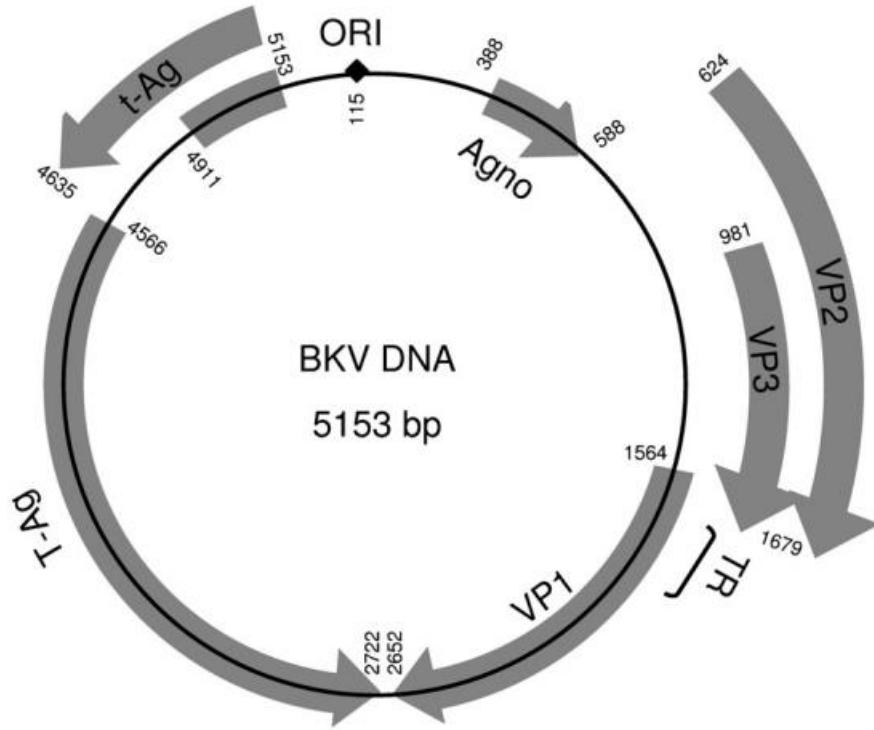
SEKANSLANACAK BÖLGENİN SEÇİMİ: Genomda yüksek değişiklik gösteren, izolat ayrımını sağlayabilecek bölgeler R İstatistik Yazılımı (Foundation for Statistical Computing, Viyana-Avusturya) ile araştırılmıştır.



Şekil3.1. BKV genomunda değişkenlik gösteren bölgelerin R İstatistik Yazılımı ile görüntülenmesi

Şekil3.1'de BKV genomundaki benzerlik düzeyleri görülmektedir. Yüksek değişkenlikli bölge amaçlandığı için benzerlik düzeyinin az olması gerekmektedir. Şekil görsel ve matematiksel olarak değerlendirildiğinde hem değişkenlik düzeyi hem de bölge uzunluğu olarak kırmızıyla çevrelenen bölgenin araştırılmasına karar verilmiştir.

BKV genomunun 1422-2197 baz çiftleri arasında kalan 776 nükleotitik bölge sekanslanmıştır. Ürün, kapsit proteinlerinden VP2 ve VP3'ün son kısımlarını, VP1'in ise başlangıcından itibaren bir kısmını kapsamaktadır. BKV dunlop dizisinin gösterildiği Şekil3.2.'de TR olarak belirtilen BKV genotiplendirilmesi için kullanılan bölgenin ise tamamını kapsamaktadır.



Şekil3.2. BKV dunlop dizisi üzerinde gösterilen gen bölgeleri ve uzunlukları (Krumholz ve ark., 2008)

PRİMER SEÇİMİ: Filogenetik analiz için sekansa gönderilecek ampliconların çoğaltılmasında kullanılacak primer dizilerinin seçiminde NCBI primer blasttan yararlanılmıştır. İlgili nükleik asit dizisini amplifiye etmek için bir forward bir reverse primer aranmıştır. NCBI primer blastın sunduğu primer önerileri incelenmiştir. Primer önerileri ile gen bankasında mevcut BKV sekansları karşılaştırıldığında, aralarında az uyumsuzluğa sahip olan, benzer erime derecelerine sahip (T_m), yüksek GC içeriğine sahip ve primer-dimer oluşturmeyen primerler seçilmiştir. Forward primer olarak 5'→3' yönünde CAACAACTGTACATTGAGAGAG dizisi seçilmiştir. Dizinin T_m 'si 53.97°C, GC içeriği %42'dir. Reverse primer olarak 5'→3' yönünde CAGGAACCCAGCACTCAACT dizisi seçilmiştir. Dizinin T_m 'si 53.83°C, GC içeriği %55'tir.

Gen bankasındaki BKV dunlop dizisi (V01108.1) ve mevcut diğer BKV dizileri ile primer dizileri kıyaslanmıştır. Bu diziler referans alındığında iki primerle de birer uyumsuz nükleotit saptanmıştır. Bu uyumsuzlukların sekans sonucuna nasıl etkiyebileceği araştırılırken uyumsuz nükleotitlerin 5' ucuna yakın olduğu saptanmıştır.

Amplifikasyonda kullanılan Taq polimeraz, sentezi primerin bağlandığı 3' ucundan devam ettirmektedir. Uyumsuzlukların 5' ucuna yakın olmasının primerlerin sensitivitesini etkilemeyeceği anlaşılmaktadır. Primerler, dunlop ve gen bankasında mevcut diğer bazı dizilerle de karşılaştırıldığında uyum oranının yüksek olduğu görülmüştür. Bu veriler, sekans sonucunu olumsuz etkileyecek bir durum olmadığını göstermiştir. Primerler uygun bulunmuş ve laboratuvar çalışmalarında bu primerler ile çalışılmıştır. Sentebiolab (Ankara, Türkiye) tarafından yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC: high liquid pressure chromatography) tekniğiyle sentezlenen primerler laboratuvara liyofilize halde ulaştırılmıştır.

AMPLİFİKASYON: Amplifikasyon hazırlığında her 5 µL ekstrakt için, her iki primerden 25 pmol/reaksiyon, 25 µL 2xlik Quantitech Probe (Qiagen, Hilden- Almanya) mastermiks ve 15 µL distile su kullanılmıştır. Amplifikasyon için qPCR tercih edilmiştir.

200 µL'lik tüpler kullanılmış olup Rotor-Gene 5plex (Qiagen, Hilden- Almanya) termal cyclers cihazında 36 kuyu seçeneği seçilmiştir. Kit HotStarTaq içerikli olduğu için termal cyclers cihazında denatürasyon aşaması öncesi döngülerin öncesinde bir kez 94°C'de 15 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Termal cyclers cihazında 94°C'de 15 sn, 56°C'de 45 sn, 72°C'de 60 sn olacak şekilde 40 döngülük program yazılarak çalışılmıştır.

AMPLİKONLARIN GÖRÜNTÜLENMESİ: Amplikonlar sekanslanmadan önce agaroz jel elektroforezde görüntülenmiştir. Agaroz jel %1,5'lik olacak şekilde SYBR green içeren gel safer eklenerek 60 ml hacminde hazırlanmıştır. İkişer µL gel loading dye ve onar µL amplikon karıştırılarak ayrı kuyucuklara yüklenmiştir. Boş bir kuyucuğa ise, kılavuzunda belirtildiği üzere, 5 µL DNA ladder (GeneDirex, Cat. No. DM003-R500, ABD) yüklenmiştir. 100 voltluk akım ile yaklaşık 20 dakika süren elektroforez sonrasında jel UV ışık altında görüntülenmiştir. Bu kısım amplifikasyonun kontrolü ve kontaminasyon saptanması durumunda önceki aşamaların tekrarlanması için teyit amaçlı

yapılmıştır. Amplikonların sorunsuz olduğu teyit edilince amplikonlar EYS Medikal (Ankara, Türkiye) firmasına Sanger sekanslama için gönderilmiştir.

3.5. Sekanslama Reaksiyonu

Sanger sekanslama, floresan işaretli dideoksinükleotit trifosfat (ddNTP) kullanılarak yapılan kapiller elektroforezdir. Sanger yöntemi ddNTP'leri DNA zincir sonlandırıcısı olarak kullanır. PCR'de, kullanılan deoksiribonükleotit trifosfatların (dNTP) 3' ucunda oksijen içeren hidroksil grup bulunur. Fosfodiester bağlar kurularak zincir 3' ucundan uzar. Sanger yönteminde ise kullanılan ddNTP'lerin 3' ucundaki oksijen yokluğu bağlanmaya imkan vermayıp zinciri sonlandırmaktadır. (Gülsev, 2014)

3.6. Filogenetik Analiz

Sekans sonuçlarının kromatogramları Chromas (Ver 2.5.0) programıyla incelenmiştir. Belirsizlik içeren diziler her iki primer yönünde doğrulanarak devam edilmiştir.

Sekans sonuçları ClustalX (Ver 2.0, Thompson ve ark. 1997) programına eklenerek diziler hizalanmıştır. Bu sayede diziler arası farklılıklar ve dizilerin uyumu incelenmiştir. Gen bankasından BKV genotipleri ve alt tiplerine ait diziler fasta formatında yüklenerek hizalamaya eklenmiştir. Hizalama sonrası filogenetik analizler Mega (Ver 11, Kumar ve ark. 1994) programı ile yapılmıştır. Programda bootstrap neighbor-joining ağaç çizilmiştir. Hasta örneklerinin genotiplendirilmesi bu filogenetik ağaç üzerinden yapılmıştır.

3.7. Aminoasit Dizilerinin Değerlendirilmesi

Nükleik asit hizalamada kullanılan hasta dizilerinin ve gen bankası dizilerinin aminoasit dizileri de hizalanmıştır. Hizalamada R programı kullanılmıştır. Sekanslanan bölgenin

içerdiği VP1, VP2 ve VP3 proteinleri ayrı ayrı analiz edilmiştir. VP2 ve VP3'nin analizi ortak, VP1'in analizi ayrıca yapılmıştır.

3.8. İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen verilerin analizi SPSS Statistics Ver. 26 (IBM Electronics, ABD) ve OpenEpi (Ver. 3.01) ile yapılmıştır.

Araştırma, Akdeniz Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (Karar No:KAEK-670) etik açıdan uygun bulunmuştur. Laboratuvar araştırmaları için Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'ndan E-34787957-010.99-583067 sayılı cihaz kullanım izni alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Amplikonların Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi

Amplikon uzunluklarının primerlerin hedeflediği bölge uzunluğuyla uyumlu olduğu jel elektroforez ile teyit edilmiştir. Bazı kuyucuklarda ek bantlar gözlenmiştir. Şekil4.1'de ikinci ve dördüncü amplikon kuyularında ek bantlar görülmektedir. Sanger sekanslama sonucunda çift yönlü kromatogram okunduğu için jelde gözlenen ek bantların olumsuz etkisi görülmemiştir. Hedef bantlar net bir şekilde görüntülenmiştir ve kontaminasyon saptanmamıştır. Bu teyitlerin ardından amplikonlar sekanslanmaya uygun bulunmuştur.



Şekil4.1.Örnek jel elektroforez görüntüsü. DNA ladder (solda) ve amplikonlar.

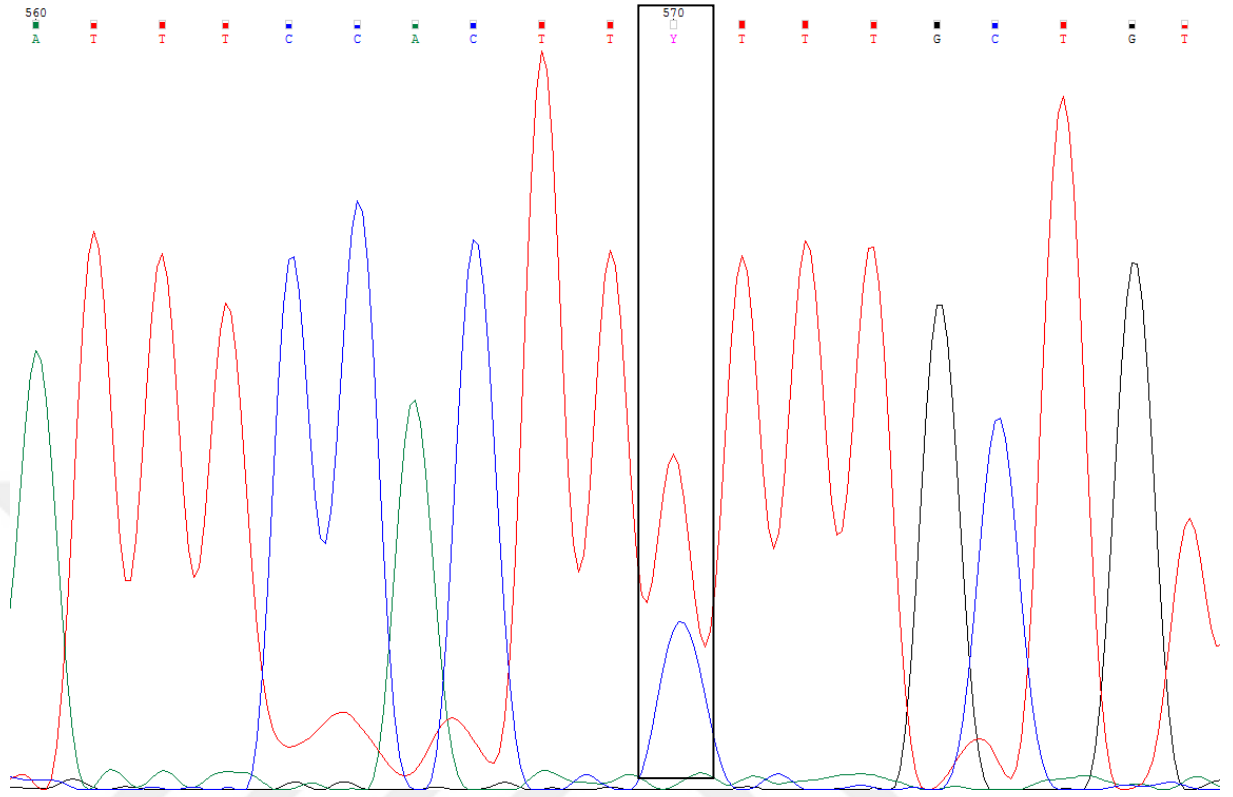
Araştırmaya dahil edilmek istenen bir hastanın idrar örneği amplifiye edilememiştir. Bunun olası sebepleri "5.Tartışma" başlığında tartışılmıştır. Yalnızca bu hastanın jel

görüntüsü elde edilememiştir. Sekanslanmaya uygun ampikonu mevcut olmadığı için ilgili hastanın filogenetik analiz sonucu mevcut değildir.

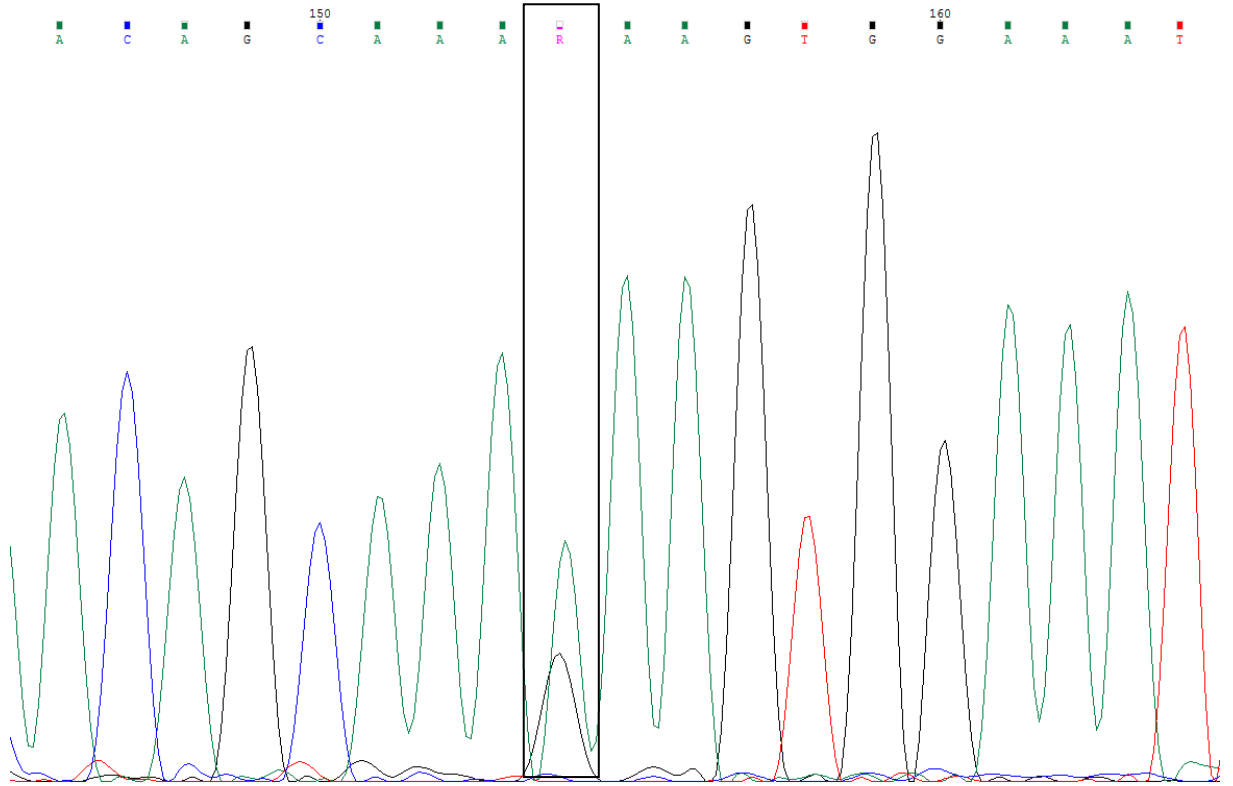
4.2. Nükleik Asit Dizilerinin İncelenmesi

Sekans sonuçları kromatogramlar üzerinden incelenmiştir. Sekanslarda insersiyon ve delesyon saptanmamıştır.

Dört hastanın nükleik asit dizilerinde belirsizlikler saptanmıştır. Bu belirsizlikler (quasispecies) OQ658751'de beş, OQ658750'deki, OQ658739'de ve OQ658752'de birer tanedir. OQ65875'de quasispecies olduğu şüphesi çok sayıda belirsizlik saptanmasına açıklama getirebilecek olup "5.Tartışma" başlığında tartışılmıştır. İlgili nükleotitler hem forward hem reverse primer sonucundan bakılarak teyit edilmiştir. Hastaların kromatogramları iki yönlü dizileme ile doğrulandıktan sonra filogenetik analize devam edilmiştir. Diğer hastaların nükleik asit dizilimlerinde belirsizlik görülmemiştir. OQ658751'deki bir belirsizlik hem forward hem reverse primer kromatogramından alınarak Şekil4.2 ve Şekil4.3' de gösterilmiştir.



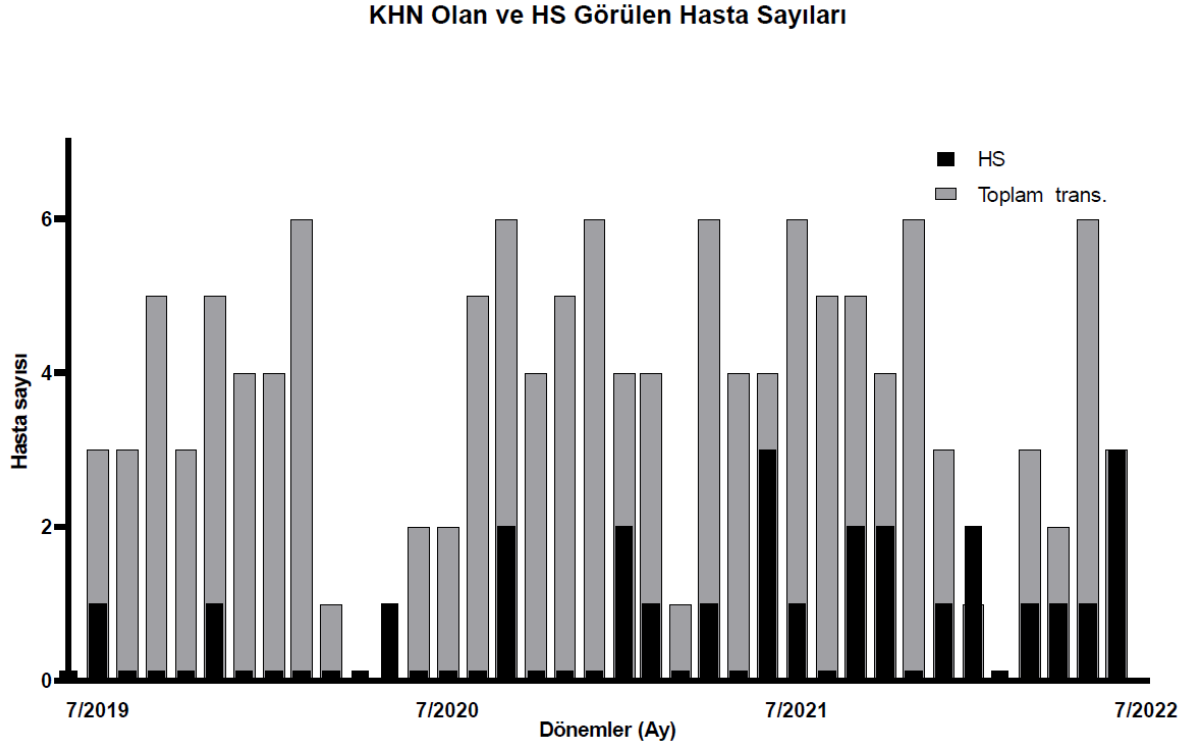
Şekil4.2. OQ658751'nin forward primer kromatogramında 570. pozisyonda "Y" ile ifade edilen belirsizlik



Şekil4.3. OQ658751'nin reverse primer kromatogramında 154. pozisyonda "R" ile ifade edilen belirsizlik

Şekil4.2'de 570. pozisyonda yer alan Y, ilgili nükleotidin T veya C olabileceğini belirtmektedir. Şekil4.3'de 154. pozisyonda yer alan R, ilgili nükleotidin A veya G olabileceğini belirtmektedir. Dizi yönleri ve belirsizliğin öncesindeki/sonrasındaki nükleotitler takip edildiğinde aynı belirsizliğin her iki kromatogramda da tutarlı bir şekilde saptandığı görülmektedir.

4.3. Vaka Sayılarının Değerlendirilmesi



Şekil 4.4. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde Temmuz 2019- Temmuz 2022 arasında pediatrik hastalarda HKHN sayısının ve KHN hastalarındaki BKVHS sayılarının aylık dağılımı

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde üç yılda yapılan KHN ve BKVHS gelişen pediatrik hasta sayıları Şekil 4.4'de gösterilmiştir. 2021 yılına dek bazı dönemlerde aylarca BKVHS vakası olmadığı görülmektedir. 2020 yılında, on iki ay boyunca, sadece iki (ardışık olmayan) ayda ve toplam üç hastada BKVHS gelişmiştir. Tabloya bakıldığında aylık HKHN sayısı artmamakla birlikte BKVHS tanısı alanların sayısının Şubat 2021'den itibaren arttığı görülmektedir.

Vaka sayıları Şubat 2021 öncesi ve sonrası olarak iki gruba ayrılarak incelendiğinde Şubat 2021 sonrasında epidemiyolojik olarak salgın olduğu istatistiksel analizle ispatlanmıştır. ($p<0.001$) Salgının filogenetik olarak gösterilmesi için Mart 2021- Mayıs 2022 arasından 13 hasta araştırılmıştır.

Şubat 2022'de HS vaka sayısı HKHN sayısından fazladır. Önceki aylarda nakil olan hastalarda sonradan HS gelişimi bunu açıklayabilir. Tabloda gösterilen sayılar yeni vakalara aittir. Geçmiş dönemde tanı alan ve BKV DNA pozitifliği devam eden hastalar tabloya dahil edilmemiştir.

Tablo4.1. Salgın döneminin ve öncesinin vaka sayıları

HKHN sayısı	HS gelişen	HS gelişmeyen	Toplam hasta
Şubat 2021 ve sonrası (17 ay)	21	46	67
Şubat 2021 öncesi (19 ay)	5	59	64

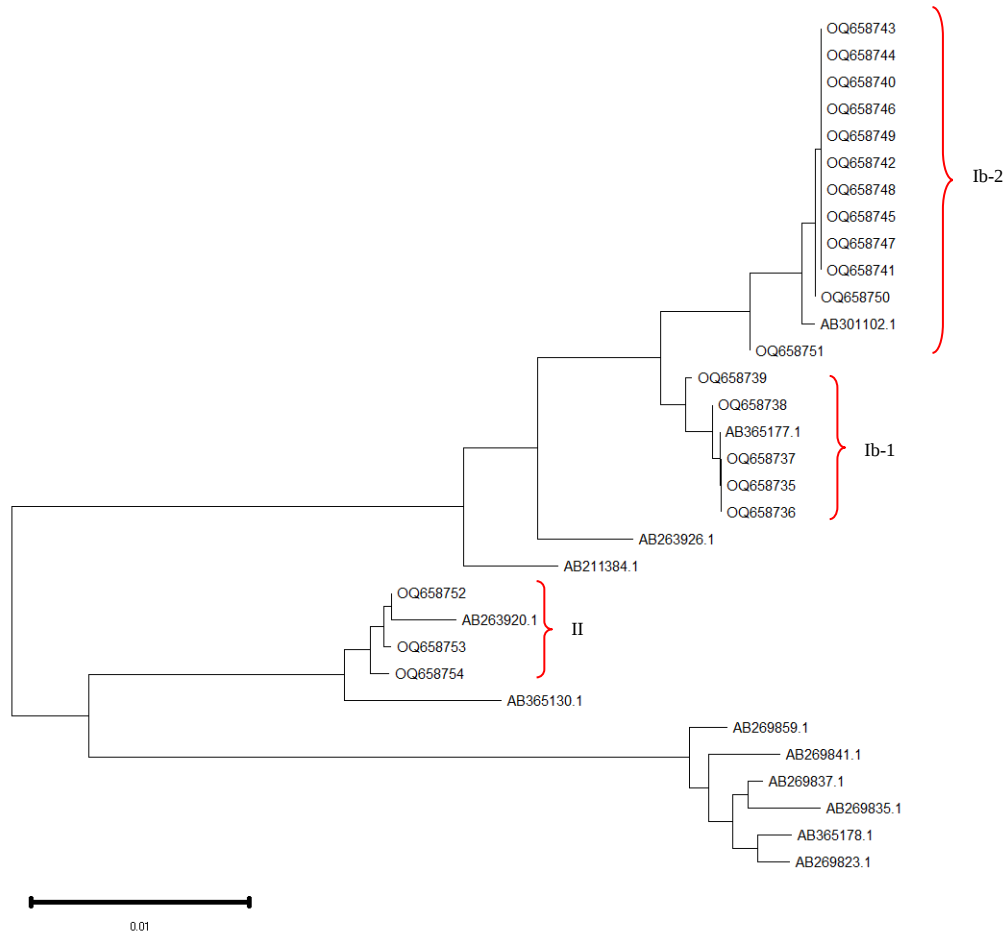
Tablo4.1 incelendiğinde salgın ve öncesini kapsayan ay sayılarının ve nakil sayılarının benzerliğine karşın HS gelişimindeki yükselişin bariz olduğu görülmektedir. Salgın döneminde (Şubat 2021 ve sonrası) 67 HKHN hastasının 21'inde (%31,4) HS gelişimi görülmüştür. Salgın olmayan dönemde ise (Şubat 2021 öncesi) HKHN yapılan toplam 64 hasta olup bunların beşinde (%7,8) HS gelişmiştir. HKHN sonrası HS gelişmeyen hasta oranları ise salgın döneminde %68,6 iken salgın olmayan dönemde %92,2'dir.

Tablo4.2. Hastaların pozitif gün sayıları

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma	Ortanca
Pozitif gün sayısı	16	12	211	101,44	50,534	110

Tablo4.2'de filogenetik analizi yapılan on altı pediatrik hastanın pozitif gün sayılarına dair istatistik verileri yer almaktadır. Hastalar ortalama olarak 101,4 gün pozitif kalmıştır (ortanca: 110 gün). Hastaların HS'leri klinik olarak düzeldiğinde BKV DNA düzeyleri zorunlu olarak bakılmadığından izlemler sonlandırılmıştır. Negatiflikler teyit edilmediğinden, hastaların pozitiflik süreleri tespit edilenden daha uzun olabilir. Bu yüzden bu çalışmada belirtilen pozitiflik değerlerinin tümü "en az pozitif gün sayısı" olarak değerlendirilebilir.

4.4. Filogenetik Analiz



Şekil4.5. BKV genotiplerinin ve hastalardaki BKV dizilerinin filogenetik analizle gösterilmesi

Elde edilen sonuçlarla filogenetik ağaç çizilmiştir. Filogenetik ağaç incelendiğinde üç küme görünmektedir. Tüm hastaların nükleik asit dizileri gen bankasından elde edilen BKV genotip dizileriyle hizalanarak genotiplendirilmiştir. On iki hastanın Ib-2 alt tipi ile

enfekte olduğu gösterilmiştir. OQ658751 ve OQ658750'nin nükleik asit dizilerinde görülen belirsizlikler kromatogram dosyaları üzerinden kontrol edilmiştir. Belirsizlik görülen pozisyon, kümenin kalanında görülen n kleotitle uyumlu bir belirsizliktir. Belirsiz nükleotitlerin de aynı pozisyonunda kümenin kalanıyla uyumu görülmüştür. Kümedeki diziler %100 homologdur. Sekansları belirlenen hastaların B KVHS başlangıç dönemlerine bakıldığında bu kümedeki ilk vaka OQ658744'tür. Hastanın B KVHS kriterine uygun ilk idrar  rneği 31.03.2021 tarihine aittir. Bu tarihten 17.11.2021 tarihine dek hastanın tüm idrar örnekleri pozitifdir. Hastanın pozitifliği en az dokuz ay sürmüştür. Pozitiflik süresi boyunca hastalar bulaştırıcıdır. Bu durumlar, bu kümedeki salgının OQ658744'ten kaynaklandığını düşündürmektedir.

Beş hastada ise Ib-1 alt tipi gösterilmiştir. OQ658738'in amplifikasyonu başarılıdır ancak kromatogram okunmasındaki bazı sorunlar sebebiyle dizinin kısaltılması gerekmiştir. Hastanın dizisi diğer dizilerden kısa olduğu için filogenetik ağaçta farklı konumlandırılmıştır. Kümedeki diziler %100 homologdur. Kümenin ilk vakası OQ658736'dır. OQ658739'un dizisinde bir tane belirsizlik ve kümenin diğer üyelerinden bir nükleotitte farklılık saptanmıştır.

 kisi erişkin olmak üzere üç hastadan oluşan küme, kalan kümelerin hastalarından genotip olarak farklılık göstermiş olup genotip II ile enfektedir. OQ658754, genotip II ile enfekte olan tek  ocuk hastadır. Kümedeki diğer iki erişkin hastadan sekanslanan diziler ile bir nükleotit farklılık göstermektedir.

Üç hastada, Ib-2 kümesinin diğer üyeleriyle aynı B KV varyantı ile enfekte olmasına rağmen, B KVHS gözlenmemiştir. OQ658750'nin idrarındaki viral yükü çok düşük ($<10^5$ kopya sayısı/mL) olup hastada hematüri gelişmemiştir. OQ658743 ve OQ658751'in viral yükleri yüksek olmasına rağmen ($>10^7$ kopya sayısı/mL) bu iki hastada da hematüri saptanmamıştır. Aynı kümedeki diğer hastaların tümünde B KVHS gelişmiştir. Bu durum, nozokomiyal bulaşa maruz kalınsa dahi hastalık gelişmeyebileceğini göstermektedir.

4.5. Aminoasit Dizilerinin Analizi

Nükleik asitler üzerinden yapılan genotiplendirme, aminoasitlerin hizalandırılması ile desteklenmiştir. Gen bankasından alınan ve genotiplendirmede kullanılan nükleik asit dizilerinin aminoasit dizileri çıkarılmıştır. VP2 ve VP3'ün hem nükleik asit hem aminoasit dizileri identik olduğu için bu iki aminoasit dizisinin analizi birlikte yapılarak yorumlanmıştır. VP1 ise ayrıca analiz edilmiştir.

	Small	Hydrophilic	Unknown
AB211384.1	Q	P	
AB263920.1	Q	T	
AB263926.1	Q	T	
AB269641.1	Q	P	
AB301102.1	K	T	
OQ658751	X	T	

34 50

Şekil4.6. VP2 ve VP3 bölgelerindeki aminoasit farklılıkları

Şekil4.6'da hastaların aminoasit dizileri incelendiğinde yalnızca OQ658751'in 34. pozisyonundaki aminoasit, belirsizlik görünen nükleotit pozisyonundan dolayı, farklı (belirsiz) saptanmıştır. Diğer hastaların aminoasitlerinin tümünün hidrofilik özellikte olduğu görülmekte olup gen bankasından alınan dizilerle uyumludur. Gen bankasından

alınan dizilerde 34. pozisyonda K veya Q olarak belirtilen iki farklı aminoasit görülmüştür. 50. pozisyonda ise dizilerin tümünde T görülmüş, yalnızca iki gen bankası dizisinde küçük aminoasit olarak yorumlanan ve proteinin üç boyutlu yapısına etki edebilecek P görülmüştür.

■ Hydrophobic ■ Small ■ Hydrophilic □ Unknown

	2	21	22	26	28	29	31	34	35	37	42	43	77	81	98	99	105	135	138
AB211384.1	V	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	E	I
AB263920.1	V	N	D	Y	L	K	T	N	A	D	D	K	K	I	E	N	V	Q	I
AB263926.1	V	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	D	I
AB269623.1	V	N	D	Y	L	R	T	T	A	D	D	R	K	I	E	N	I	E	V
AB269635.1	V	N	D	Y	L	R	T	T	A	D	D	R	K	M	E	N	I	E	V
AB269637.1	V	N	D	Y	L	R	T	T	A	D	D	R	K	I	D	N	I	E	V
AB269641.1	V	N	D	Y	L	R	T	T	A	D	D	R	K	I	E	N	V	E	V
AB269659.1	V	N	D	Y	L	R	T	T	A	E	D	R	K	I	E	N	I	E	V
AB301102.1	L	E	N	F	L	K	S	N	D	S	D	R	Q	I	E	H	I	E	I
AB365130.1	V	D	H	Y	Q	H	T	N	A	D	D	K	K	I	E	N	V	Q	I
AB365177.1	V	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	D	I
OQ658746	L	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	E	I
OQ658751	X	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	E	I
OQ658752	V	X	N	Y	L	K	T	N	A	D	D	K	K	I	E	N	V	Q	I
OQ658750	X	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	E	I
OQ658753	V	D	N	Y	L	K	T	N	A	D	D	K	K	I	E	N	V	Q	I
OQ658738	V	E	N	F	L	K	S	N	D	S	E	R	Q	I	E	H	I	D	I
OQ658754	V	D	N	Y	L	K	T	N	A	D	D	K	K	I	E	N	V	Q	I
OQ658739	V	E	N	F	L	K	S	N	X	S	E	R	Q	I	E	H	I	E	I

Şekil4.7.VP1 bölgesindeki aminoasit farklılıkları

Şekil4.7'de gösterilen VP1 bölgesindeki aminoasitler incelendiğinde tüm pozisyonlarda hastaların aminoasit özelliklerinin uyumlu olduğu görülmektedir. Yalnızca bir gen bankası dizisinde 28. pozisyonda Q olarak belirtilmiş farklı özellikte aminoasit görülmektedir. Nükleik asit diziliminde belirsizlik görülen dört hastanın aminoasit dizilerinde de belirsizlikler saptanmıştır. Belirsiz aminoasitler OQ658751 ve

OQ658750'de ikinci, OQ658752'de yirmi birinci ve OQ658739'da otuz beşinci pozisyonlarda görülmüştür.

Pozisyonlardaki aminoasit çeşitliliğine bakıldığında her pozisyonda birden fazla tipte aminoasit bulunmaktadır. Aynı pozisyonda aynı aminoasitlere sahip dizilerin yakınlığı bu şekil üzerinden de görülebilmektedir. Şekil4.6 ve Şekil4.7'de yalnızca aminoasit farklılıkları belirtilmiştir. Şekillerde yer almayan tüm pozisyonlarda aminoasitler tüm diziler için identiktir.



5. TARTIŞMA

Araştırılan salgın, şu ana dek bildirilen en fazla hastayı etkileyen HKHN sonrası BKVHS salgınıdır. Bu konuda ilk araştırma Koskenvuo ve ark. tarafından yapılmıştır. Helsinki Üniversitesi Çocuk Hastanesi'ndeki pediatrik hastalarla yürütülen çalışmada otuz ay içinde HKHN yapılan 50 hastanın 6'sında (insidans %12) BKVHS gelişmiştir. Bu altı vakadan beşi nozokomiyal bulaş ihtimalinin araştırılmasına elverişli ve yakın zaman diliminde görülmüştür. İki vakanın sekansları %100 identik çıkmış olup bu hastaların aynı varyant ile enfeksiyonu gösterilmiştir. Bu ikiliden aylar sonra görülen bir vaka da aynı varyantla ilişkilendirilmiştir. (Koskenvuo ve ark., 2013) Kato ve ark. hematolojik rahatsızlıklarından dolayı yedisine HKHN yapılan, ikisine kemoterapi uygulanan ve tümünde BKVHS görülen erişkin hastalarla çalışmıştır. İzolatlardan dördü ve kalan ikisi kendi içlerinde %100 homolog çıkmıştır. Hastaların hastanede yatış zamanları incelendiğinde zamanların çakıştığı görülmüş ve bu durum BKV'nin nozokomiyal bulaş ihtimalini desteklemiştir. (Kato ve ark., 2017) Onda ve ark. hastalarında hem ADV kaynaklı HS (ADVHS) hem BKVHS araştırmış ve ADVHS'nin daha şiddetli ve uzun sürdüğünü göstermiştir. Araştırmada BKV sekanslanmamış olsa da BKVHS hastalarının hastanede yatış zamanları ve diğer veriler incelendiğinde araştırmacılar BKV için nozokomiyal bulaşın mümkün olduğu belirtmiştir. (Onda ve ark., 2021) Hosoi ve ark. dokuz ay içerisinde HKHN sonrası BKVHS gelişen altı hastayı filogenetik olarak incelediğinde dört izolatta >%99.5 homoloji saptamıştır. Hastaların tümünün yatışlı olması ve banyoların ortak kullanım olması da nozokomiyal bulaş destekleyicidir. (Hosoi ve ark., 2021)

Bu tez araştırmasında ise BKVHS gelişen 13 pediatrik HKHN hastası incelendiğinde hastaların sekiz tanesinin Ib-2, dört tanesinin Ib-1 genotipiyle enfekte olduğu gösterilmiştir. Yalnızca bir pediatrik HKHN hastasının (OQ658754) genotip II ile enfekte olduğu ortaya çıkmıştır. Kümeler içi homoloji oranı %100'dür. Bu sayılar, KHN hastaları arasında şu ana dek bilinen, en büyük BKVHS salgınına göstermektedir.

Sekanslanan yirmi hastanın on ikisinde Ib-2 alt tipi, beşinde Ib-1 alt tipi, üçünde ise genotip II saptanmıştır. Dünya genelinde en yaygın görülen genotip I'i (%80) genotip IV (%15) takip etmektedir. Genotip II ve III ise nispeten nadir görülür. (Ikegaya ve ark., 2006) Literatürdeki benzer çalışmalarda saptanan BKV genotipleri de bu veriyle uyumludur. Hosoi ve ark. HKHN sonrası BKVHS gelişen altı hastanın dördünde Ic alt tipini göstermiştir. (Hosoi ve ark., 2021) Kato ve ark. ise BKV nozokomiyal bulaş araştırmalarında altı izolatu tip I'e, iki izolatu tip IV'e ait bulmuştur. (Kato ve ark., 2017)

Bu tez araştırmasında dizileri sekanslanan ancak BKVHS geliştirmeyen üç pediatrik KHN hastası dikkat çekicidir. Bu hastaların idrar örneklerinde Ib-2 kümesindeki hastalarla BKV izolatlarıyla tamamen identik diziler saptanmıştır. Bu BKVHS gelişiminde viral faktörlerin yeterli olmadığını, konağa ilişkin faktörler gibi başka faktörlerin de hastalık oluşumunda etkili olduğunu net bir şekilde vurgulamaktadır. Ayrıca bu hastalarda BKVHS gelişmemesi, nozokomiyal bulaş gerçekleşse bile semptom veya patogeneze görülemeyebileceğini göstermektedir. Bu ve benzeri araştırmalarda nozokomiyal bulaşa maruz kalan ancak semptom göstermediği için hasta olarak tanımlanmayan, araştırmaya dahil edilmeyen hastaların varlığı mümkündür. BKVHS klinik tablosu görülmeyen hastalarda da önlem alınmasının gerekliliği anlaşılmaktadır. Bu hastaların da diğer hastalara virüsü bulaştırabilme olasılıkları göz önünde bulundurulmalıdır.

Bulaştan etkilenen ancak BKVHS gelişmeyen üç hasta incelenmiştir. Hastaların ikisinin idrar BKV DNA düzeyleri yüksek olarak sınıflandırılmaktadır ve bu düzeyler BVKHS gelişenlerinkiyle kıyaslandığında anlamlı düzeyde düşüktür. Bu veriler, BKV DNA düzeyinin HS gelişimine etkisinin göz ardı edilmemesi gerektiğini düşündürmektedir.

Bulgular kısmında bahsedilen amplifiye olmayan örneğin durumu araştırılmıştır. Bu örnek klinikten yapılan istemle Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda rutinde kullanılan BKV test kitleriyle çalışılmıştır. Örneğin ticari bir kitle BKV DNA kopya sayısının tespit edilebilmiş olması örnekte PCR inhibitörü olmadığını

göstermektedir. Bu nedenle sekanslama öncesi yapılan amplifikasyonda kullanılan primerlerin en az birinin bu hastadaki BKV varyantını amplifiye etmek için uygun olmadığı sonucuna varılmaktadır. Bu da büyük olasılıkla bu örneğin genomik dizisinin çalışmadaki diğer dizilerle farklılık gösterdiğini düşündürmektedir.

Mutasyonlar tüm virüslerde görülmektedir. BKV gibi kronik enfeksiyonlarda, özellikle bağışıklığı baskılanmış hastalarda mutasyonlar sonucu quasispecies görülmektedir. Luo ve ark. hem bağışıklığı baskılanmış hem de sağlıklı bireylerin idrar örneklerinde BKV quasispecies varlığını göstermişlerdir. (Luo ve ark., 2012) Bu tez araştırmasında, HKHN hastalarında BKV quasispecies gösterilmiştir.

Hastaların birinde beş farklı noktada quasispecies şüphesi uyandıran nükleotit sinyallerine rastlanmıştır. Bu hasta haricindeki bir hastada iki, iki farklı hastada da birer belirsiz nükleotit saptanmıştır. En fazla sayıda quasispecies saptanan hastanın en uzun süre ve en yüksek miktarda immünsüpresyon aldığı ve enfeksiyon süresinin yaklaşık, en az beş ay olduğu görülmüştür. Hastada replikasyon sırasındaki mutasyonlardan kaynaklanan quasispeciesler ile enfeksiyon olduğu düşünülmektedir. Bu, bu tarz hastalarda varyant oluşumunun daha olası olduğunu göstermiştir.

Sanger sekanslama ile ancak belirli bir miktarın üzerindeki nükleotit konsantrasyonları saptanabilmektedir. Saptanamayacak düzeyde konsantrasyonlardaki belirsiz nükleotit sinyallerinin varlığı mümkün olup bu, quasispecieslerin sanılandan daha yaygın olabileceğini düşündürmektedir.

BKVHS hastalarıyla aynı klinikte veya odada yatmanın BKVHS geliştirme riskine etkisinin araştırılması önemli bir veri olacaktır. Ayrıca hastaların pozitiflik sürelerince bulaştırıcı oldukları da dikkate alınmalıdır.

Araştırmada ADV incelenmemiştir. BKV dışında HS etkeni patojenlerin varlığından "2.7.1. Hemorajik Sistit" başlığında bahsedilmiştir. 2020 yılında Yazısız ve ark., bu tez araştırmasının gerçekleştirildiği aynı hastanenin aynı kliniğinde BKV araştırmıştır. Pediatrik HKHN hastalarının ikisinde BKV ve ADV tarandığında, bir hastada iki test de pozitif sonuç vermiştir. İlgili örneğin ADV kopya sayısı düşük olup hastanın sonraki örneklerinde ADV saptanmamıştır. İkinci hastanın idrar BKV viral yükü yüksek olup hem idrar hem plazması ADV negatif çıkmıştır. Hastane ve hasta grubu benzerliğinden dolayı alınacak olası sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda bu tez çalışmasında ADV çalışılmamış ve BKV'ye odaklanılmıştır.

Araştırmada full genom sekans yapılmamıştır. Hastaların immünsüpresyon durumları düşünüldüğünde, hastalarda quasispecieslerin yaygın görülmesi mümkündür. Bu da, hastadan hastaya bulaşı takiben enfeksiyon seyrinde mutasyonlar sonucu dizinin değişmesi yolu ile farklı bir dizinin oluşması ile sonuçlanabilecek bir durumdur. Bu mutasyon geçirme durumu, virüsün genomunun tamamının dizilenmesi durumunda bile kaynak tespitini olanaksız kılacak bir durumdur. Bu sebepler, sekanslama yönteminden bağımsız olarak, nozokomiyal bulaşı ispatlamak için yüzde yüz kanıt edinilmesini zorlaştırmaktadır. Sekanslanacak bölgenin seçimi bu yüzden kritik olmuştur. Genomda yüksek değişiklik gösteren, izolat ayrımını sağlayabilecek bölgeler R İstatistik Yazılımı (Foundation for Statistical Computing, Viyana-Avusturya) ile araştırılmıştır. BKV genomunun BKV genotiplendirilmesi için de kullanılan bölgenin tamamını kapsayan 776 nükleotitlik alan sekanslanmıştır.

Hastaların nakil öncesi BKV antikor düzeylerine bakılmamıştır. Bu nedenle hastaların serolojik durumlarının BKVHS gelişimine etkisi araştırılamamıştır ancak hastaların nakil tarihindeki yaşları ve BKV'nin dünyadaki yaygınlığı göz önüne alındığında hasta grubunun büyük çoğunluğunun seropozitif olduğu tahmin edilebilmektedir.

VP1 bölgesi aminoasitlerinin farklılıkların VP2 ve VP3'tekilere kıyasla fazla olması öngörülmüştür. Aminoasit analizinin sonucu öngörülenle uyumludur. Bu bölgenin,

genotiplendirme için kullanımının uygun olmasının nedeni de aslında sahip olduğu değişkenliktir. Aminoasitlerde hidrofilitik-hidrofobik arası değişim üç boyutlu yapıya etkiyeceği için bu tarz değişimlerin viral patogeneze üzerine etki edebileceği akılda tutulmalıdır.

Araştırmada çevresel örnekler incelenmemiştir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez araştırmasında 13 pediatrik HKHN hastasında nakil sonrası BKVHS salgını gösterilmiştir. Hastanenin diğer yıllardaki vaka sayıları incelendiğinde, araştırılan dönemde salgın olduğu istatistiksel olarak ispatlanmıştır. BKV izolatlarının filogenetik analizi yapılarak hastalar homoloji düzeylerine göre kümelendirilmiştir. Salgının nozokomiyal bulaş kaynaklı olduğu ispatlanmıştır. Hastaların nakil tarihleri incelenerek bu tez güçlendirilmiştir. Bu, BKV'nin salgınlara sebep olabileceğini göstermektedir.

Araştırmada nozokomiyal bulaştan etkilenen ancak BKVHS gelişmeyen hastalar saptanmıştır. Bu durum -semptom gözlenmesi bile- klinikte BKVHS hastalarının bulundukları süre zarfında BKVHS gelişmeyen hasta grubunun risk altında olduğunu göstermektedir. Nozokomiyal bulaşa sebep olan ve BKVHS gelişimine yol açan etkenler araştırılmalıdır. Bu sayede salgınlara önlenmesi mümkün olacaktır.

Nozokomiyal bulaşın önlenmesi için dikkat edilebilecek noktalar mevcuttur. Sağlık çalışanlarının taşıyıcılık durumunun ve el yıkama alışkanlıklarının araştırılabilir. Ortak kullanılan tıbbi gereçlerin ve hastaların ortak kullanım alanlarının dezenfeksiyonu kritiktir. Hastanelerin temizlik prosedürlerinin BKV dezenfeksiyonu için yeterli olup olmadığı araştırılmalıdır. BKV zarfsız bir virüs olduğu için zarflı virüslerden dirençlidir. Çoğu mikroorganizmanın dezenfeksiyonunu sağlayabilecek alkol, klorheksidin, benzalkolyum klorür gibi dezenfektanlar zarfsız virüsler için yetersiz kalabilmektedir.(Noda ve ark., 2000) Hastanelerde yaygın olarak kullanılabilen kuaterner amonyum tuzu bazlı dezenfektanların da zarfsız virüslere karşı etkisiz olduğu bilinmektedir. (Gerba, 2015; Howie ve ark., 2008) Farklı içeriğe sahip dezenfektanların kullanımı araştırılabilir.

Gelecek çalışmalarda çevresel örneklerin incelenmesi faydalı olacaktır. HKHN hastalarının tek kişilik odalarda kalması bulaş riskini ciddi düzeyde azaltacaktır. Ayrıca

BKVHS hastası ile temasa geçen, sağlık çalışanları ve hasta yakınlarının tamamının potansiyel bulaştırıcılıkları açısından takiplerinin mutlaka yapılması gereklidir.



KAYNAKLAR

Abend JR, Jiang M, Imperiale MJ. BK Virus and Human Cancer: Innocent until Proven Guilty. *Semin Cancer Biol.* 2009;19: 252-260

Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, Inoue T, Si M, Ohashi K, Tanikawa S, Sakamaki H, Onozawa Y, Chen Q, Zheng H, Kitamura T. Adenovirus is a key pathogen in haemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001;32: 1325–1330.

Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30: 503-528.

Andrews CA, Shah KV, Daniel RW, Hirsch MS, Rubin RH. A serological investigation of BK virus and JC virus infections in recipients of renal allografts. *J Infect Dis.* 1988;158:176-81.

Apperley JF, Rice SJ, Bishop JA, Chia Y, Krausz T, Gardner SD, Goldman JM. Late-onset hemorrhagic cystitis associated with urinary excretion of polyomaviruses after bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1987;43:108-12.

Arthur RR, Shah KV, Baust SJ, Santos GW, Saral R. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Engl J Med.* 1986;315:230-4.

Awadalla Y, Randhawa P, Ruppert K, Zeevi A, Duquesnoy RJ. HLA mismatching increases the risk of BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2004;4:1691-6.

Barbanti-Brodano G, Pagnani M, Viadana P, Beth-Giraldo E, Giraldo G, Corallini A. BK virus DNA in Kaposi's sarcoma. *Antibiot Chemother*. 1987;38:113–20.

Baysal BE, Farr JE, Goss JR, Devlin B, Richard CW 3rd. Genomic organization and precise physical location of protein phosphatase 2A regulatory subunit A beta isoform gene on chromosome band 11q23. *Gene*. 1998;217: 107-16.

Bedi A, Miller CB, Hanson JL, Goodman S, Ambinder RF, Charache P, Arthur RR, Jones RJ. Association of BK virus with failure of prophylaxis against hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *J Clin Oncol*. 1995;13:1103–1109.

Behzad-Behbahani A, Klapper PE, Valley PJ, Cleator GM, Bonington A. BKV-DNA and JCV-DNA in CSF of patients with suspected meningitis or encephalitis. *Infection* 2003;31:374–8.

Behzad-Behbahani A, Klapper PE, Valley PJ, Cleator GM. BK virus DNA in CSF of immunocompetent and immunocompromised patients. *Arch Dis Child* 2003; 88:174–5. 56.

Bofill-Mas S, Formiga-Cruz M, Clemente-Casares P, Calafell F, Girones R. Potential transmission of human polyomaviruses through the gastrointestinal tract after exposure to virions or viral DNA. *J Virol*. 2001;75:10290-9.

Bogdanovic G, Priftakis P, Taemmeraes B, Gustafsson A, Flaegstad T, Winiarski J, Dalianis T. Primary BK virus (BKV) infection due to possible BKV transmission during bone marrow transplantation is not the major cause of hemorrhagic cystitis in transplanted children. *Pediatr Transplant*. 1998;2:288-93.

Borni-Duval C, Caillard S, Olagne J, Perrin P, Braun-Parvez L, Heibel F, Moulin B. Risk factors for BK virus infection in the era of therapeutic drug monitoring. *Transplantation*. 2013;95:1498-505

Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, Torrence S, Schuessler R, Roby T, Gaudreault-Keener M, Storch GA. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant*. 2005;5:582-94.

Calin GA, di Iasio MG, Caprini E, Vorechovsky I, Natali PG, Sozzi G, Croce CM, Barbanti-Brodano G, Russo G, Negrini M. Low frequency of alterations of the alpha (PPP2R1A) and beta (PPP2R1B) isoforms of the subunit A of the serine-threonine phosphatase 2A in human neoplasms. *Oncogene*. 2000;19:1191-5.

Cesaro S, Tridello G, Pillon M, Calore E, Abate D, Tumino M, Carucci N, Varotto S, Cannata E, Pegoraro A, Barzon L, Palù G, Messina C. A prospective study on the predictive value of plasma BK virus-DNA load for hemorrhagic cystitis in pediatric patients after stem cell transplantation. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2015;4: 134–42.

Cesaro S, Hirsch HH, Faraci M, Owoc-Lempach J, Beltrame A, Tendas A, Baltadakis I, Dalle JH, Koc Y, Toporski J, Styczynski J, Yesilipek MA, Heinz W, Caniglia M, Rascon J, Fauser AA, Michallet M, Lopez-Corral L, Neuburger S, Tridello

G, Einsele H. Cidofovir for BK virus-associated hemorrhagic cystitis: a retrospective study. *Clin Infect Dis*. 2009;49:233-40

Cesaro S, Dalianis T, Rinaldo CH, Koskenvuo M, Pegoraro A, Einsele H, Catherine Cordonnier C, Hans H Hirsch HH; ECIL-6 Group. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73:12-21.

Chang D, Wang M, Ou WC, Lee MS, Ho HN, Tsai RT. Genotypes of human polyomaviruses in urine samples of pregnant women in Taiwan. *J Med Virol*. 1996;48:95-101

Chatterjee M, Weyandt TB, Frisque RJ. Identification of archetype and rearranged forms of BK virus in leukocytes from healthy individuals. *J Med Virol*. 2000;60:353-62.

Choi KH. Viral polymerases. *Adv Exp Med Biol*. 2012;726: 267-304.

Chong S, Antoni M, Macdonald A, Reeves M, Harber M, Magee CN. BK virus: Current understanding of pathogenicity and clinical disease in transplantation. *Rev Med Virol*. 2019;29: 2044

Cicala C, Avantaggiati ML, Graessmann A, Rundell K, Levine AS, Carbone M. Simian virus 40 small-t antigen stimulates viral DNA replication in permissive monkey cells. *J Virol*. 1994;68: 3138-44

Coleman DV, Gardner SD, Mulholland C, Fridiksdottir V, Porter AA, Lilford R, Valdimarsson H. Human polyomavirus in pregnancy. A model for the study of defence mechanisms to virus reactivation. Clin Exp Immunol. 1983;53: 289-96.

Coleman DV, Mackenzie EF, Gardner SD, Poulding JM, Amer B, Russell WJ. Human polyomavirus (BK) infection and ureteric stenosis in renal allograft recipients. J Clin Pathol. 1978;31:338-47.

Coleman DV, Wolfendale MR, Daniel RA, Dhanjal NK, Gardner SD, Gibson PE, Field AM. A prospective study of human polyomavirus infection in pregnancy. J Infect Dis. 1980;142:1-8.

Corallini A, Pagnani M, Viadana P, Silini E, Mottes M, Milanesi G, Gerna G, Vettor R, Trapella G, Silvani V, et al. Association of BK virus with human brain tumors and tumors of pancreatic islets. Int J Cancer. 1987;39(1):60–7

Costa J, Howley PM, Legallais F, Yee C, Young N, Rabson AS. Oncogenicity of a nude mouse cell line transformed by a human papovavirus. J Natl Cancer Inst. 1977;58:1147-9

Dalianis T, Hirsch HH. Human polyomaviruses in disease and cancer. Virology. 2013;437:63-72.

Dall A, Haniharan S. BK virus nephritis after renal transplantation. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3(Suppl 2):S68-75

Das D, Shah RB, Imperiale MJ. Detection and expression of human BK virus sequences in neoplastic prostate tissues. *Oncogene*. 2004; 23: 7031–46.

De Gascun CF, Carr MJ. Human polyomavirus reactivation: disease pathogenesis and treatment approaches. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013: 373579.

de la Cruz J, Pursell K. BK Virus and Its Role in Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Evolution of a Pathogen. *Curr Infect Dis Rep*. 2014;16:417.

Demey B, Descamps V, Presne C, Helle F, Francois C, Duverlie G, Castelain S, Brochot E. BK Polyomavirus Micro-RNAs: Time course and clinical relevance in kidney transplant recipients. *Viruses*. 2021;13:351.

Dolei A, Pietropaolo V, Gomes E, Di Taranto C, Ziccheddu M, Spanu MA, Lavorino C, Manca M, Degener AM. Polyomavirus persistence in lymphocytes: prevalence in lymphocytes from blood donors and healthy personnel of a blood transfusion centre. *J Gen Virol*. 2000;81: 1967–1973.

Dörries K, Vogel E, Günther S, Czub S. Infection of human polyomaviruses JC and BK in peripheral blood leukocytes from immunocompetent individuals. *Virology*. 1994;198:59-70.

Dörries K. Molecular biology and pathogenesis of human polyomavirus infections. *Dev Biol Stand*. 1998;94:71-9.

Drachenberg CB, Hirsch HH, Ramos E, Papadimitriou JC. Polyomavirus disease in renal transplantation: review of pathological findings and diagnostic methods. *Hum Pathol.* 2005;36:1245-55.

Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Chaudhry MR, Ugarte R, Mavanur M, Thomas B, Cangro C, Costa N, Ramos E, Weir MR, Haririan A. Histological Evolution of BK Virus-Associated Nephropathy: Importance of Integrating Clinical and Pathological Findings. *Am J Transplant.* 2017;17: 2078-2091

Drachenberg CB, Papadimitriou JC. Polyomavirus-associated nephropathy: update in diagnosis. *Transpl Infect Dis.* 2006;8:68-75.

Drake JW, Holland JJ. Mutation rates among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96: 13910-3.

Dropulic LK, Jones RJ. Polyomavirus BK infection in blood and marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41:11-8.

Egli A, Infanti L, Dumoulin A, Buser A, Samaridis J, Stebler C, Gosert R, Hirsch HH. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis.* 2009;199: 837-46.

Ferreira-Gonzalez A, Siddiqui R. BK Virus in the Transplant Patient. *Clinical Microbiology Newsletter.* 2007;29: 121–128.

Fogeda M, Muñoz P, Luque A, Morales MD, Bouza E. Cross-sectional study of BK virus infection in pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2007;11:394-401.

Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet*. 1971;1: 1253-7.

Gardner SD, MacKenzie EF, Smith C, Porter AA. Prospective study of the human polyomaviruses BK and JC and cytomegalovirus in renal transplant recipients. *J Clin Pathol*. 1984;37:578-86.

Geetha D, Tong BC, Racusen L, Markowitz JS, Westra WH. Bladder carcinoma in a transplant recipient: evidence to implicate the BK human polyomavirus as a causal transforming agent. *Transplantation*. 2002;73: 1933–6.13.

Gerba CP. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81:464-9.

Gilis L, Morisset S, Billaud G, Ducastelle-Leprêtre S, Labussière-Wallet H, Nicolini FE, Barraco F, Detrait M, Thomas X, Tedone N, Sobh M, Chidiac C, Ferry T, Salles G, Michallet M, Ader F; Lyon BK virus Study group. High burden of BK virus-associated hemorrhagic cystitis in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2014;49: 664–70.

Goudsmit J, Baak ML, Sletterus KW, Van der Noordaa J. Human papovavirus isolated from urine of a child with acute tonsillitis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1981;283:1363-4.

Goudsmit J, Wertheim-van Dillen P, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils. *J Med Virol.* 1982;10:91-9.

Gülsev CE. Optimization and Use of DNA Sequencing by Capillary Electrophoresis for Comparative Yeast Genotype Analysis. İ.T.Ü. Moleküler Biyoloji- Genetik ve Biyoteknoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2014, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Zeynep Petek Çakar)

Gupta G, Kuppachi S, Kalil RS, Buck CB, Lynch CF, Engels EA. Treatment for presumed BK polyomavirus nephropathy and risk of urinary tract cancers among kidney transplant recipients in the United States. *Am J Transplant.* 2018;18: 245-252

Harris KF, Christensen JB, Imperiale MJ. BK virus large T antigen: interactions with the retinoblastoma family of tumor suppressor proteins and effects on cellular growth control. *J Virol.* 1996;70: 2378-86

Harris KF, Christensen JB, Radany EH, Imperiale MJ. Novel mechanisms of E2F induction by BK virus large-T antigen: requirement of both the pRb-binding and the J domains. *Mol Cell Biol.* 1998;18: 1746-56

Hart A, Singh D, Brown SJ, Wang JH, Kasiske BL. Incidence, risk factors, treatment, and consequences of antibody-mediated kidney transplant rejection: A systematic review. *Clin Transplant.* 2021;35:14320

Helle F, Brochot E, Handala L, Martin E, Castelain S, Francois C, Duverlie G. Biology of the BKPyV: An Update. *Viruses.* 2017;9:327.

Heritage J, Chesters M, McCance DJ. The persistence of papovavirus BK DNA sequences in normal human renal tissue. *J Med Virol.* 1981;8: 143-50.

Herrera GA, Veeramachaneni R, Turbat-Herrera EA. Electron microscopy in the diagnosis of BK-polyoma virus infection in the transplanted kidney. *Ultrastruct Pathol.* 2005;29: 469-74.

Hirsch HH, Pergam SA. Human adenovirus, polyomavirus, and parvovirus infections in patients undergoing hematopoietic stem-cell transplantation. In: *Forman SJ, Negrin RS, Antin JH, Applebaum FR, editors. Thomas' hematopoietic cell transplantation. 5th ed. Singapore: Wiley, 2016; p. 1129–1139.*,8

Hirsch HH, Randhawa P and the AST Infectious Diseases Community of Practice. BK Virus in Solid Organ Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation* 2009;9: S136–S146

Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis.* 2003;3: 611-23.

Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, Limaye AP, Mihatsch MJ, Nickeleit V, Ramos E, Randhawa P, Shapiro R, Steiger J, Suthanthiran M, Trofe J. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation.* 2005;79:1277-86.

Hirsch HH, Randhawa P. BK polyomavirus in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013;13:179-88.

Hirsch HH. Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. *Am J Transplant* 2002;2: 25–30.

Hirsch HH, Knowles W, Dickenmann M, Passweg J, Klimkait T, Mihatsch MJ, Steiger J. Prospective study of polyomavirus type BK replication and nephropathy in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2002;347:488-96.

Hix JK, Braun WE, Isada CM. Delirium in a renal transplant recipient associated with BK virus in the cerebrospinal fluid. *Transplantation* 2004;78: 1407–8.

Hosoi H, Murata S, Suzuki T, Li TC, Hatanaka K, Tanaka-Taya K, Mushino T, Kuriyama K, Tamura S, Hanaoka N, Sonoki T. A cluster of BK polyomavirus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2021;23:13736.

Howell DN, Smith SR, Butterly DW, Klassen PS, Krigman HR, Burchette Jr JL, Miller SE. Diagnosis and management of BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Transplantation*. 1999;68:1279-88.

Howie R, Alfa MJ, Coombs K. Survival of enveloped and non-enveloped viruses on surfaces compared with other micro-organisms and impact of suboptimal disinfectant exposure. *J Hosp Infect*. 2008;69:368-76.

Ikegaya H, Saukko PJ, Risto Terti R, Metsärinne KP, Carr MJ, Crowley B, Sakurada K, Zheng HY, Kitamura T, Yogo Y. Identification of a genomic subgroup of BK polyomavirus spread in European populations. *J Gen Virol*. 2006;87: 3201-3208

Imperiale MJ. The human polyomaviruses, BKV and JCV: molecular pathogenesis of acute disease and potential role in cancer Virology. 2000;267: 1-7.

Imperiale MJ. Oncogenic transformation by the human polyomaviruses. Oncogene. 2001;20:7917-23.

Ito Y, Nishi S, Imai N, Yoshita K, Saito K, Nakagawa Y, Takahashi K, Narita I. The case of BK virus infection in which it was difficult to differentiate from acute rejection. Clin Transplant. 2011;25:44-8.

Jandial A, Mishra K, Sandal R, Kamal Kant Sahu KK. Management of BK virus-associated haemorrhagic cystitis in allogeneic stem cell transplant recipients. Ther Adv Infect Dis. 2021;8: 2049936121991377.

Jiang M, Abend JR, Tsai B, Imperiale MJ. Early events during BK virus entry and disassembly. J Virol. 2009;83:1350–8.

Jin L, Gibson PE, Booth JC, Clewley JP. Genomic typing of BK virus in clinical specimens by direct sequencing of polymerase chain reaction products. J Med Virol. 1993;41: 11-7

Jin L, Pietropaolo V, Booth JC, Ward KH, Brown DW. Prevalence and distribution of BK virus subtypes in healthy people and immunocompromised patients detected by PCR-restriction enzyme analysis. Clin Diagn Virol. 1995;3:285-95.

Jin L, Gibson PE, Knowles WA, Clewley JP. BK virus antigenic variants: sequence analysis within the capsid VP1 epitope. *J Med Virol.* 1993;39: 50-6.

Kahan AV, Coleman DV, Koss LG. Activation of human polyomavirus infection-detection by cytologic technics. *Am J Clin Pathol.* 1980;74:326-32.

Karam G, Maillet F, Parant S, Soullillou JP, Giral-Classe M. Ureteral necrosis after kidney transplantation: risk factors and impact on graft and patient survival. *Transplantation* 2004;78:725–9.

Kato J, Mori T, Suzuki T, Ito M, Li TC, Sakurai M, Yamane Y, Yamazaki R, Koda Y, Toyama T, Hasegawa N, Okamoto S. Nosocomial BK Polyomavirus Infection Causing Hemorrhagic Cystitis Among Patients With Hematological Malignancies After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Am J Transplant.* 2017;17: 2428-2433

Kausman JY, Somers GR, Francis DM, Jones CL. Association of renal adenocarcinoma and BK virus nephropathy post transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2004; 19: 459–62. 14.

Kitamura T, Aso Y, Kuniyoshi N, Hara K, Yogo Y. High incidence of urinary JC virus excretion in nonimmunosuppressed older patients. *J Infect Dis.* 1990;161:1128-33.

Knowles WA, Gibson PE, Gardner SD. Serological typing scheme for BK-like isolates of human polyomavirus. *J Med Virol.* 1989;28:118-23.

Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DWG, Miller E. Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40. *J Med Virol.* 2003;71:115-23.

Koskenvuo M, Dumoulin A, Lautenschlager I, Auvinen E, Mannonen L, Anttila VJ, Jahnukainen K, Saarinen-Pihkala UM, Hirsch HH. BK polyomavirus-associated hemorrhagic cystitis among pediatric allogeneic bone marrow transplant recipients: treatment response and evidence for nosocomial transmission. *J Clin Virol.* 2013;56: 77-81

Krumbholz A, Bininda-Emonds ORP, Wutzler P, Zell R. Evolution of four BK virus subtypes. *Infect Genet Evol.* 2008;8: 632-43.

Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. *Comput Appl Biosci.* 1994;10: 189-91.

Lavien G, Alger J, Preece J, Alexiev BA, Alexander RB. BK Virus-Associated Invasive Urothelial Carcinoma With Prominent Micropapillary Carcinoma Component in a Cardiac Transplant Patient: Case Report and Review of Literature. *Clin Genitourin Cancer.* 2015;13:397-9

Lee HM , Jang IA , Lee D , Kang EJ , Choi BS, Park CW , Choi YJ, Yang CW, Kim YS , Chung BH. Risk factors in the progression of BK virus-associated nephropathy in renal transplant recipients. *Korean J Intern Med.* 2015;30:865-72.

Lee W, Langhoff E. Polyomavirus in human cancer development. *Adv Exp Med Biol.* 2006;577:310–8.

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;15:1196-9

Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang RH, Yuen KY, Kwong YL. Quantification of polyoma BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation. *Blood*. 2001;98: 1971–1978.

Leung AYH, Chan M, Tang SCW, Liang R, Kwong YL. Real-time quantitative analysis of polyoma BK viremia and viruria in renal allograft recipients. *J Virol Methods*. 2002;103:51-6.

Leung AYH, Chan M, Cheng VCC, Lie AKW, Yuen KY, Kwong YL. Polyoma BK viruria in patients undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35:1029-30.

Leung AYH, Chan M, Kwong YL. Genotyping of the noncoding control region of BK virus in patients with haemorrhagic cystitis after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005;35:531-2.

Leung AY, Yuen KY, Kwong YL. Polyoma BK virus and haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplantation: a changing paradigm. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 929–937.

Loo R, Whittaker J, Rabrenivich V. National practice recommendations for hematuria: How to evaluate in the absence of strong evidence? *Perm J*. 2009;13: 37–46.

Lorant C, Westman G, Bergqvist A, von Zur-Mühlen B, Britt-Marie Eriksson BM. Risk Factors for Developing BK Virus-Associated Nephropathy: A Single-Center Retrospective Cohort Study of Kidney Transplant Recipients. *Ann Transplant*.2022;27:934738.

Low JA, Magnuson B, Tsai B, Imperiale MJ. Identification of gangliosides GD1b and GT1b as receptors for BK virus. *J Virol*. 2006;80:1361–6.

Lunde LE, Dasaraju S, Cao Q, Cohn CS, Reding M, Bejanyan N, B Trottier B, Rogosheske J, Brunstein C, Warlick E, Young JAH, Weisdorf DJ, Ustun C. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: risk factors, graft source and survival. *Bone Marrow Transplant* 2015;50: 1432–7.

Luo C, Hirsch HH, Kant J, Randhawa P. VP-1 quasispecies in human infection with polyomavirus BK. *J Med Virol*. 2012;84:152-61.

Masutani K, Shapiro R, Basu A, Tan H, Wijkstrom M, Randhawa P. The Banff 2009 Working Proposal for polyomavirus nephropathy: a critical evaluation of its utility as a determinant of clinical outcome. *Am J Transplant*. 2012;12:907-18.

Mazzoni E, Pellegrinelli E, Mazziotta C, Lanzillotti C, Rotondo JC, Bononi I, MR, Manfrini M, Vesce F, Tognon M, Martini F. Mother-to-child transmission of oncogenic polyomaviruses BKPyV, JCPyV and SV40. *J Infect*. 2020;80:563-570.

Mesters JR, Tan J, Hilgenfeld R. Viral enzymes. *Curr Opin Struct Biol*. 2006;16:776-86.

Miyamura K, Takeyama K, Kojima S, Minami S, Matsuyama K, Morishima Y, Koder Y. Haemorrhagic cystitis associated with urinary excretion of adenovirus type 11 following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1989;4: 533–535.

Moens U, Krumbholz A, Ehlers B, Zell R, Johne R, Calvignac-Spencer S, Lauber C. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: An update. *Infect Genet Evol.* 2017;54: 18-38x

Monini P, Rotola A, de Lellis L, Corallini A, Secchiero P, Albini A, Benelli R, Parravicini C, Barbanti-Brodano G, Cassai E. Latent BK virus infection and Kaposi's sarcoma pathogenesis. *Int J Cancer.* 1996;66:717-22

Morel V, Martin E, François C, Helle F, Faucher J, Mourez T, Choukroun G, Duverlie G, Castelain S, Brochot E. A Simple and Reliable Strategy for BK Virus Subtyping and Subgrouping. *J Clin Microbiol.* 2017;55: 1177-1185

Moriyama T, Marquez JP, Wakatsuki T, Sorokin A. Caveolar endocytosis is critical for BK virus infection of human renal proximal tubular epithelial cells. *J Virol.* 2007;81:8552–62.

Mutlu D, Colak D, Yavuzer U, Akman S, Akkaya B, Kocak H, Demirbakan H, Guven AG, Karpuzoglu G, Gultekin M. Quantitation of BK virus load in serum and urine samples for the diagnosis of BK virus associated nephropathy in renal transplant recipients from Turkey. 14th International Symposium on Infections in the Immunocompromised Host. Crans-Montana, Switzerland, 2/5 – 7 – 2006. Kongre kitabı sayfa:20

Nankivell BJ, Renthawa J, Sharma RN, Kable K, O'Connell PJ, Chapman JR. BK Virus Nephropathy: Histological Evolution by Sequential Pathology. *Am J Transplant*. 2017;17: 2065-2077

Noda M, Matsuda S, Kobayashi M. Virucidal activity of disinfectants: virucidal activities of disinfectants on some viruses coated on several materials and its durability. *Kansenshogaku Zasshi*. 2000;74:1023-31.

Onda Y, Kanda J, Hanaoka N, Watanabe M, Arai Y, Hishizawa M, Kondo T, Yamashita K, Nagao M, Fujimoto T, Takaori-Kondo A. Possible nosocomial transmission of virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol*. 2021;100:753-761

Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *Lancet*. 1971;1:1257-60

Park WY, Kang SS, Jin K, Park SB, Choe M, Han S. Long-term prognosis of BK virus-associated nephropathy in kidney transplant recipients. *Kidney Res Clin Pract*. 2018;37: 167-173.

Pastrana DV, Ray U, Magaldi TG, Schowalter RM, Çuburu N, Buck CB. BK polyomavirus genotypes represent distinct serotypes with distinct entry tropism. *J Virol*. 2013;87: 10105-13.

Pietropaolo V, Di Taranto C, Degener AM, Jin L, Sinibaldi L, Baiocchi A, Melis M, Orsi N. Transplacental transmission of human polyomavirus BK. *J Med Virol.* 1998;56:372-6.

Ramos E, Drachenberg CB, Wali R, Hirsch HH. The decade of polyomavirus BK-associated nephropathy: state of affairs. *Transplantation.* 2009;87: 621-30

Randhawa P, Brennan DC. BK virus infection in transplant recipients: an overview and update. *Am J Transplant.* 2006;6:2000-5.

Replogue MD, Storch GA, Clifford DB. BK virus: a clinical review. *Clin Infect Dis.* 2001;33: 191-202.

Rundell K, Major EO, Lampert M. Association of cellular 56,000- and 32,000-molecular-weight protein with BK virus and polyoma virus t-antigens. *J Virol.* 1981 Mar;37: 1090-3.

Sandler ES, Aquino VM, Goss-Shohet E, Hinrichs S, Krisher K. BK papova virus pneumonia following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1997;20: 163–5.

Sawinski D, Forde KA, Trofe-Clark J. Persistent BK viremia does not increase intermediate-term graft loss but is associated with de novo donor-specific antibodies. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26: 966-975.

Sawinski D, Goral S. BK virus infection: An update on diagnosis and treatment. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2015;30:209–17.

Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant.* 2010;10: 2615-2623.

Schubbert R, Renz D, Schmitz B, Doerfler W. Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:961-6.

Schwarz A, Linnenweber-Held S, Heim A, Framke T, Haller H, Schmitt C. Viral Origin, Clinical Course, and Renal Outcomes in Patients With BK Virus Infection After Living-Donor Renal Transplantation. *Transplantation.* 2016;100:844-53.

Seif I, Khoury G, Dhar R. The genome of human papovavirus BKV. *Cell.* 1979 Dec;18:963-77.

Sharif A, Alachkar N, Bagnasco S, Geetha D, Gupta G, Womer K, Arend L, Racusen L, Montgomery R, Kraus E. Incidence and Outcomes of BK Virus Allograft Nephropathy among ABO- and HLA-Incompatible Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2012;7: 1320–1327.

Sharma PM, Gupta G, Vats A, Shapiro R, Randhawa PS. Polyomavirus BK non-coding control region rearrangements in health and disease. *J Med Virol.* 2007;79: 1199-207

Sharma R, Tzetzso S, Patel S, Zachariah M, Sharma S, Melendy T. BK Virus in Kidney Transplant: Current Concepts, Recent Advances, and Future Directions. *Exp Clin Transplant*. 2016;14:377-84.

Sharma R, Zachariah M. BK Virus Nephropathy: Prevalence, Impact and Management Strategies. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2020;13:187-192.

Shinohara T, Matsuda M, Cheng SH, Marshall J, Fujita M, Nagashima K. BK virus infection of the human urinary tract. *J Med Virol*. 1993;41: 301-5

Siguié M, Sellier P, Bergmann JF. BK-virus infections: a literature review. *Med Mal Infect*. 2012;42: 181-7.

Siparsky NF, Kushnir LF, Gallichio MH, Conti DJ. Ureteral stents: a risk factor for polyomavirus BK viremia in kidney transplant recipients undergoing protocol screening. *Transplant Proc*. 2011;43:2641-4.

Sis B, Mengel M, Haas M, Colvin RB, Halloran PF, Racusen LC, Solez K, Baldwin WM, E Bracamonte ER, Broecker V, Cosio F, Demetris AJ, Drachenberg C, Einecke G, Gloor J, Glotz D, Kraus E, Legendre C, Liapis H, Mannon RB, Nankivell BJ, Nickleit V, Papadimitriou JC, Randhawa P, Regele H, Renaudin K, Rodriguez ER, Seron D, Seshan S, Suthanthiran M, Wasowska BA, Zachary A, Zeevi A. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant*. 2010;10:464-71.

Smith JM, McDonald RA, Finn LS, Healey PJ, Davis CL, Limaye AP. Polyomavirus nephropathy in pediatric kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2004;4:2109-17.

Spach DH, Bauwens JE, Myerson D, Mustafa MM, Bowden RA. Cytomegalovirus-induced haemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 1993;16: 142–144

Sundsford A, Spein AR, Lucht E, Flaegstad T, Seternes OM, Traavik T. Detection of BK virus DNA in nasopharyngeal aspirates from children with respiratory infections but not in saliva from immunodeficient and immunocompetent adult patients. *J Clin Microbiol*. 1994;32:1390-4.

Theile M, Grabowski G. Mutagenic activity of BKV and JCV in human and other mammalian cells. *Arch Virol*. 1990;113:221-33.

Thomas A, Dropulic LK, Rahman MH, Geetha D. Ureteral stents: a novel risk factor for polyomavirus nephropathy. *Transplantation*. 2007;84:433-6.

Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*. 1997;25: 4876-82.

Tognon M, Corallini A, Martini F, Negrini M, Barbanti-Brodano G. Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors. *Oncogene*. 2003;22:5192-200.

Tütüncüoğlu SO, Yanovich S, Özdemirli M. CMV-induced haemorrhagic cystitis as a complication of peripheral blood stem cell transplantation: case report. Bone Marrow Transplantation. 2005;36: 265-6

Vago L, Cinque P, Sala E, Nebuloni M, Caldarelli R, Racca S, Ferrante P, Trabottoni G, Costanzi G. JCV-DNA and BKV-DNA in the CNS tissue and CSF of AIDS patients and normal subjects. Study of 41 cases and review of the literature. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1996;12:139-46.

Vallbracht A, Löhler J, Gossmann J, Glück T, Petersen D, Gerth HJ, Gencic M, Dörries K. Disseminated BK type polyomavirus infection in an AIDS patient associated with central nervous system disease. Am J Pathol. 1993;143: 29–39.

van der Meijden E, Janssens RWA, Lauber C, Bavinck JNB, Gorbalenya AE, Feltkamp MCW. Discovery of a new human polyomavirus associated with trichodysplasia spinulosa in an immunocompromized patient. PLoS Pathog. 2010;6: 1001024.

van Gorder MA, Pelle PD, Henson JW, Sachs DH, Cosimi AB, Colvin RB. Cynomolgus polyoma virus infection: a new member of the polyoma virus family causes interstitial nephritis, ureteritis, and enteritis in immunosuppressed cynomolgus monkeys. Am J Pathol. 1999;154: 1273-84.

Varella RB, Zalona ACJ, Diaz NC, Zalis MG, Santoro-Lopes G. BK polyomavirus genotypes Ia and Ib1 exhibit different biological properties in renal transplant recipients. Virus Res. 2018;243:65-68.

Viscount HB, Eid AJ, Espy MJ, Griffin MD, Thomsen KM, Harmsen WS, Razonable RR, Smith TF. Polyomavirus polymerase chain reaction as a surrogate marker of polyomavirus-associated nephropathy. *Transplantation*. 2007;84:340-5.

Wang J, Li J, Chen Z, Xu M, Yang C, Rong R, Zhu T. A Nomogram for Predicting BK Virus Activation in Kidney Transplantation Recipients Using Clinical Risk Factors. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:770699.

Wang SS, Esplin ED, Li JL, Huang L, Gazdar A, Minna J, Evans GA. Alterations of the PPP2R1B gene in human lung and colon cancer. *Science*. 1998;282:284-7.

Wang W, Simmons DT. Simian virus 40 large T antigen can specifically unwind the central palindrome at the origin of DNA replication. *J Virol*. 2009;83: 3312-22

Watanabe S, Kotake S, Nozawa A, Muto T, Uchida S. Tumorigenicity of human BK papovavirus plaque isolates, wild-type and plaque morphology mutant, in hamsters. *Int J Cancer*. 1982;29:583-6.

Whalen B, Laffin J, Friedrich TD, Lehman JM. SV40 small T antigen enhances progression to >G2 during lytic infection. *Exp Cell Res*. 1999;251:121-7

Wiseman AC. Polyomavirus nephropathy: a current perspective and clinical considerations. *Am J Kidney Dis*. 2009;54:131-42.

Yamamoto R, Kusumi E, Kami M, Yuji K, Hamaki T, Saito A, Murasugi N, Hori A, Kim SW, Makimoto A, Ueyama J, Tanosaki R, Miyakoshi S, Mori S, Morinaga

S, Heike Y, Taniguchi S, Masuo S, Takaue Y, Mutou Y. Late haemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST). Bone Marrow Transplantation. 2003;32: 1089–1095.

Yin WY, Lee MC, Lai NS, LuMC. BK virus as a potential oncovirus for bladder cancer in a renal transplant patient. J Formos Med Assoc. 2015;114: 373-4

Yu J, Boyapati A, Rundell K. Critical role for SV40 small-t antigen in human cell transformation. Virology. 2001 Nov 25;290:192-8.

Zheng HY, Nishimoto Y, Chen, Hasegawa M, Zhong S, Ikegaya H, Ohno N, Sugimoto C, Takasaka T, Kitamura T, Yogo Y. Relationships between BK virus lineages and human populations. Microbes Infect. 2007;9: 204-13.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı		Uyruğu	
Soyadı		Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler: