

# İstanbul'da İzole Edilen HIV-1 *pol* Geni Dizilerinin Moleküler Epidemiyolojik Analizi

## Molecular Epidemiological Analysis of HIV-1 *pol* Gene Sequences Isolated in Istanbul, Turkey

Murat SAYAN<sup>1</sup>, Hayat KUMBASAR KARAOSMANOĞLU<sup>2</sup>, Birgül METE<sup>3</sup>, Alper GÜNDÜZ<sup>4</sup>, Özlem AYDIN<sup>2</sup>, Mücahit YEMİŞEN<sup>3</sup>, Nuriye UZUN<sup>4</sup>, Fehmi TABAK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli.

<sup>1</sup> Kocaeli University Medical Faculty Hospital, Central Laboratory, PCR Unit, Kocaeli, Turkey.

<sup>2</sup> Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

<sup>2</sup> Haseki Education and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Istanbul, Turkey.

<sup>3</sup> İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>3</sup> Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey.

<sup>4</sup> Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

<sup>4</sup> Sisli Etfal Education and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 19.07.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 04.09.2012

### ÖZET

Yüksek genetik değişkenliğe sahip olan insan immün yetmezlik virusu (HIV)'nun günümüzde HIV-1 ve HIV-2 olmak üzere iki genotipi bulunmaktadır. Dünya çapındaki enfeksiyonların önemli ölçüde nedeni HIV-1'dir ve M, N, O ve P olmak üzere dört alt grubu vardır. HIV pandemilerinin ana nedeni olan M grubu dokuz alttipe (A, B, C, D, F, G, H, J ve K) ayrılmaktadır. Ayrıca alttıpler arasında gerçekleşen ve günümüzde 49 kadar tanımlanmış dolaşan rekombinant form (CRF) bulunmaktadır. Bu çalışmada, İstanbul'da HIV pozitif bireylerden izole edilen HIV-1 suşlarının filogenetik bir yaklaşımla alttıplendirmesi ve prevalanslarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Haziran 2009-Şubat 2012 yılları arasında, 57'si yeni tanı almış ve antiretroviral (ARV) tedavi naif, 15'i çeşitli ARV tedaviler altında takip edilen toplam 72 HIV-1 pozitif hasta [58 erkek, 14 kadın; yaş aralığı: 20-57 (ortanca: 37) yıl; CD4<sup>+</sup> T hücre sayısı aralığı: 3-813 (ortanca: 243)/mm<sup>3</sup>; HIV-RNA yükü aralığı: 1.5+E3-1.0+E7 (ortanca: 5.8+E5) IU/ml] alınmıştır. Olguların 46 (%64)'sında enfeksiyonun bulaş yolu heteroseksüel temas, 23 (%32)'ünde ise homoseksüel temastır. HIV-1 alttıplendirme analizi için en yaygın kullanılan algoritma (HIVdb-Stanford Üniversitesi Genotipik Direnç Değerlendirme algoritması) kullanılmıştır. HIV-1 ters transkriptaz (*pol*) bölgesinin direkt dizilemesine dayanan filogenetik analize göre, en sık karşılaşılan HIV-1 tipinin CRF (36/72; %50)'ler oldu-

*İletişim (Correspondence):* Doç. Dr. Murat Sayan, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 262 303 8571, **E-posta (E-mail):** sayanmurat@hotmail.com

ğu; bunu alttip B'nin izlediği (31/72; %43); alt-alttip A1 (3/72; %4.2) ve alt-alttip F1 (2/72; %2.8)'in de dolaşımda bulunduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda saptanan rekombinant suşlar sırasıyla; CRF02\_AG [%25 (18/72), Batı Afrika, Orta Afrika ve Orta Doğu/Kuzey Afrika kaynaklı], CRF12\_BF [%12.5 (9/72), Güney Amerika kaynaklı], CRF03\_AB [%9.7 (7/72), Doğu Avrupa ve Orta Asya kaynaklı] ve CRF01\_AE [%2.8 (2/72), Güney Doğu Asya, Doğu Asya ve Orta Afrika kaynaklı] olmuştur. HIV-1'in ülkemize hangi yollardan girdiği ve nasıl yayıldığına ilişkin anlaşılması ve enfeksiyonların kontrolü için HIV-1 ile enfekte bireylerde daha fazla moleküler epidemiyolojik temelli çalışmaya gereksinim bulunmaktadır. Ayrıca ülkemizdeki HIV-1 alttip ve CRF'lerinin tanımlanmasının, global çaptaki moleküler epidemiyolojik verilere katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

**Anahtar sözcükler:** HIV-1; ters transkriptaz; sekans analizi; moleküler epidemiyoloji; İstanbul.

## ABSTRACT

Human immunodeficiency virus (HIV) characterized by a high genetic variability includes two genotypes namely HIV-1 and HIV-2. A major proportion of the infections worldwide is caused by HIV-1 which includes four groups (M, N, O and P). Group M being responsible for the HIV pandemic is further divided into nine genetically distinct subtypes (A, B, C, D, F, G, H, J, and K). Additionally, more than 49 circulating recombinant forms (CRFs) have been recognized up to now. The aim of this study was to determine the subtype characterization and prevalence of HIV strains isolated from patients inhabiting in Istanbul, Turkey. The study was carried out between June 2009 and June 2012 and a total of 72 patients [58 male, 14 female; age range: 20-57 (median: 37) years; CD4<sup>+</sup> T cell count range: 3-813 (median: 243)/mm<sup>3</sup>; HIV-RNA load range: 1.5+E3-1.0+E7 (median: 5.8+E5) IU/ml] were included in the study. Fortysix of the patients (64%) have acquired the infection via heterosexual and 23 (32%) via homosexual contact. Of the patients 57 were newly diagnosed and antiretroviral (ARV) therapy-naïve patients, while 15 were under different ARV therapies. For HIV-1 subtyping the most widely known algorithm (HIVdb-Stanford University Genotypic Resistance Interpretation Algorithm) was used. The population-based sequencing of the reverse transcriptase region (*pol*) of HIV-1 indicated that CRFs (36/72; 50%) were the most commonly identified strains, followed by subtype B (31/72; 43%) among Turkish patients. Sub-subtypes A1 (3/72; 4.2%) and F1 (2/72; 2.8%) were also detected as low prevalent. The recombinant forms of HIV-1 circulated in Istanbul, Turkey were found as follows, respectively; CRF02\_AG [%25 (18/72), West Africa, Central Africa and Middle East/North Africa origin], CRF12\_BF [%12.5 (9/72), South America origin], CRF03\_AB [%9.7 (7/72), Eastern Europe and Central Asia origin] and CRF01\_AE [%2.8 (2/72), South-East Asia, East Asia and Central Africa origin]. Since molecular epidemiologic studies are important tools for tracking the transmission and spread patterns, and for the control of the HIV infections, HIV molecular studies should be expanded in HIV-1 infected Turkish patients. Furthermore, the determined subtypes and CRFs of HIV-1 in Turkey may be expected to contribute to global HIV surveillance systems.

**Key words:** HIV-1; reverse transcriptase; sequence analysis; molecular epidemiology; Turkey.

## GİRİŞ

İnsan immün yetmezlik virusu (HIV), 2008 yılında, 2.7 milyon yeni enfeksiyon ve 2 milyon ölüm ile dinamik bir pandemi oluşturmuştur. Yaklaşık 33.3 milyon insan 2009 yılı itibarıyla HIV ile enfektedir<sup>1</sup>. HIV popülasyon döngüsünün çok hızlı olması ( $T^1/2$  1gün), virusun yüksek mutasyon sıklığı ( $\sim 3 \times 10^{-5}$  mutasyon/baz/replikasyon siklusu), yüksek retroviral rekombinasyon sıklığı ve konak immün sisteminin seleksiyonu, geniş ve genetik olarak değişken HIV popülasyonlarının in vivo oluşumuna yol açmak-

tadır<sup>2,3</sup>. Günümüzde HIV'in, HIV-1 ve HIV-2 olmak üzere iki genotipi tanımlanmıştır. Dünya çapındaki enfeksiyonların etkeni önemli ölçüde HIV-1 olup dört alt grupta (M, N, O ve P) toplanmaktadır. HIV pandemilerinin ana nedeni olan M grubu dokuz alttıpe (A, B, C, D, F, G, H, J, K) ayrılır. A ve F alttıplerinin A1-A5 ve F1, F2 olmak üzere alttıpleri mevcuttur. Ayrıca alttıpler arasında gerçekleşen, iki rekombinant form tipi [dolaşan rekombinant formlar (CRF) ve özgün rekombinant formlar (URF)] bulunmaktadır<sup>4-6</sup>. Önceleri HIV-1 alttıpi olarak tanımlanan E ve I, günümüzde CRF içinde yer almaktadır. Sayısı sürekli değişmekle birlikte günümüzde tanımlanmış 49 CRF ve ~30 URF vardır<sup>7,8</sup>.

HIV'in genetik değişkenliği, tanıda, viral yük ölçümünde, antiretroviral (ARV) tedaviye yanıtta ve ilaç direncinin oluşumunda etkilidir. Ayrıca bulaşmada ve hastalığın progresyonunda HIV alttıpleri arasında farklılıklar olduğu belirtilmektedir<sup>7,8</sup>. Günümüzde global epidemilerden sorumlu alttıpler olarak A-D; CRF'ler olarak ise CRF01\_AE (Güneydoğu Asya'da predominant) ve CRF02\_AG (Orta ve Batı Afrika'da predominant) öne çıkmaktadır<sup>4,5,7</sup>.

Ülkemizde ilk HIV/AIDS olgusu 1985 yılında bildirilmiş olup, Sağlık Bakanlığı'nın Ekim 1985-Aralık 2011 tarihleri arasındaki HIV/AIDS süreyans verilerine göre HIV-1 enfeksiyon olgu sayısı 5224'tür<sup>9,10</sup>. Ülkemizde HIV enfeksiyonu/AIDS hastalığı her ilin İl Sağlık Müdürlüklerine bildirim zorunlu hastalıklar grubunda (A grubu) yer almaktadır. HIV/AIDS'li hasta verilerini standart bir şekilde toplanmasını amaçlayan veri tabanı programı çabaları da mevcuttur<sup>11</sup>. Ancak dolaşımdaki HIV-1 alttıpleri konusunda bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Ülkemizde HIV-1 ile enfekte bireylerdeki tek çalışma, 2006 yılında İstanbul'da, 27 olgu üzerinde yapılmış ve bu çalışmada HIV-1 alttıpi B predominant olarak bulunmuştur<sup>12</sup>. Bu çalışmada, ülkemizde HIV pozitif bireylerden izole edilen HIV-1 suşlarında, filogenetik bir yaklaşımla, alttıplendirmenin yapılması ve prevalansın ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Çalışma Grubu

Çalışma grubu, Haziran 2009-Şubat 2012 yılları arasında, 61'i yeni tanı almış ve ARV tedavi uygulanmamış; 15'i ise çeşitli ARV tedavileri altında takip edilen 76 HIV-1 pozitif hastadan oluşturuldu. Hastaların tanı ve takipleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanelerinde yapıldı. Hastaların HIV-1 enfeksiyonu tanısında ve ARV tedavi seçimlerinde "European AIDS Clinical Society (EACS)" kılavuzu esas alındı<sup>13</sup>. Alınan EDTA'lı kan örnekleri hemen santrifüj edildi; plazmaları ayrıldı ve alikotlanarak çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Hastalarda anti-HIV-1/2 antikorları mikropartikül enzim immunoassay tekniği (AxSYM; Abbott Laboratories, ABD ve Elecsys; Roche Diagnostics, Almanya) ile saptandı. Tekrarlayan pozitif sonuçlar Western blot (WB) yöntemi (DIA PRO, HIV-1 LIA, Diagnostic Bioprobes Srl, İtalya) ile doğrulandı. Anti-HIV-1/2 antikor ve doğrulama testleri sırasında hastaların kimlikleri gizlendi ve her örnek yeniden verilen kodlarla çalışıldı.

## HIV-RNA İzolasyonu ve Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RtPCR)

HIV-1 RNA, "QIASymphony SP/Artus HIV-1 QS-RGQ Kit" (QIAGEN GmbH, Almanya), "COBAS Ampliprep/COBAS TaqMan HIV-1 Test" (Roche Molecular Systems, ABD) ve "Abbott M2000 SP/Abbott Real-Time HIV-1 Amplification Kit" (Abbott Molecular Inc. ABD) izolasyon platformları ve kitleri kullanılarak saptandı ve kantite edildi.

## HIV-1 pol Geninin Dizilenmesi ve Altiplendirme

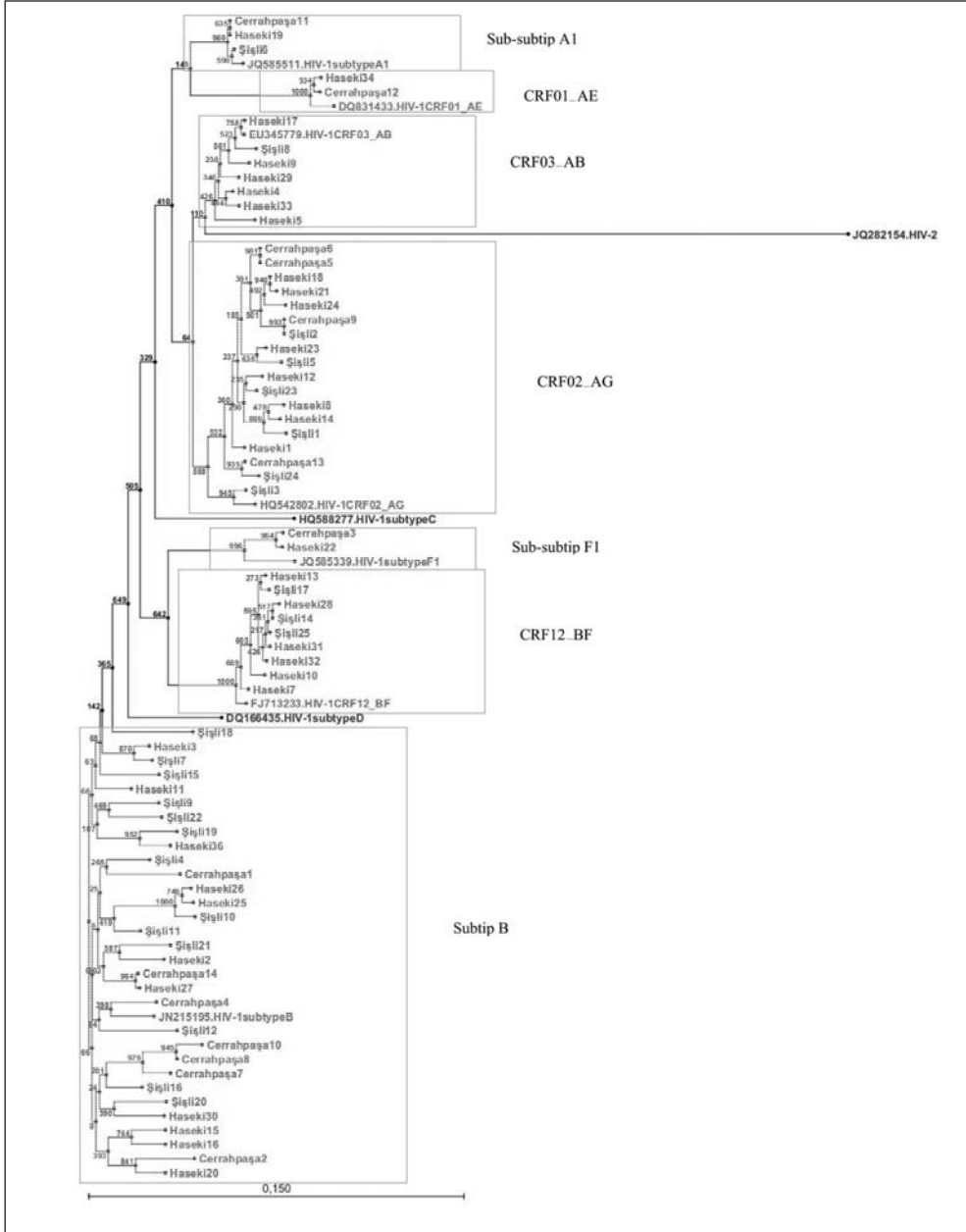
HIV-1 *pol* geninin (ters transkriptaz domaini, kodon 41-232) dizilenmesinde, "The French ANRS (National Agency for AIDS Research) AC11 Direnç Grubu" nun PCR ve dizileme algoritmasından yararlanıldı ([www.hivfrenchresistance.org](http://www.hivfrenchresistance.org)). Kullanılan dış primerler MJ3: 5'-agtaggacctacacctgtca-3' ve MJ4: 5'-ctgttagtgctttggctct-3'; iç primerler (573 bp) A(35): 5'- ttggtgcacttaaatttcccattagtcctatt-3' ve NE1(35): 5'-cctactaactctgtatgtcattgacagctccagct-3'; sekanslama primeri ise A(20): 5'-attttccat-tagtcctatt-3' şeklinde idi. HIV-1 cDNA sentezi M-MuLV ters transkriptaz enziminin kullanıldığı "First Strand cDNA Synthesis Kit" (Thermo Scientific Inc, Fermentas, Litvanya) ile gerçekleştirildi. PCR ürünleri, "DNA Engine peltier" termal döngü (BioRad Laboratories, ABD) platformunda, 95°C'de 10 dakika ön denatürasyon, 45 döngü 95°C'de 45 saniye, 55°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye koşullarında elde edildi. Primerler, PCR için 0.2 uM, dizi için 0.3 uM final konsantrasyonunda kullanıldı. Tüm PCR ürünleri "High Pure PCR Product Purification Kit" (Roche Diagnostics, Almanya) ile saflaştırıldı ve ürünler ABI PRISM 310 platformunda "DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit" (Amersham Pharmacia Biotech Inc, ABD) kullanılarak dizilendi. Direkt dizileme için kullanılan PCR protokolü; 35 siklus 95°C'de 20 saniye, 50°C'de 25 saniye ve son olarak 60°C'de 2 dakika olarak gerçekleşti. Elektroferogramlar "Vector NTI v5.1" (InforMax, Invitrogen, Life Science Software, ABD) programı ile elde edildi. HIV-1 izolatlarının altiplendirmesinde en yaygın kullanılan algoritma; [HIVdb-Stanford Üniversitesi Genotipik Direnç Değerlendirme algoritması ([www.hivdb.stanford.edu](http://www.hivdb.stanford.edu))] kullanıldı<sup>14</sup>.

## Filogenetik Analiz

HIV-1 alttip dağılımı "neighbor-joining" yöntemi ile filogenetik olarak analiz edildi. Filogenetik ağaç "CLC Sequence Viewer 6.5.1" (CLC bio A/S, Aarhus, Danimarka) programı kullanılarak oluşturuldu ve "bootstrap" değeri 1000 olarak alındı. Ağaç oluşturulurken kullanılan referans diziler GenBank'tan ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) sağlandı (Şekil 1).

## BULGULAR

Çalışma grubunda yer alan 76 HIV pozitif bireyin plazma örneği PCR analizine alınmış, ancak 72 örneğin HIV-1 *pol* geni çoğaltılarak dizilenebilmiştir. Buna göre filogenetik analiz, 57'si hiç tedavi almamış (naif), 15'i çeşitli ARV tedavileri altında takip edilen 72 HIV-1 pozitif hasta ile gerçekleştirilmiştir (Tablo I). Hastaların 58'i erkek 14'ü kadın olup, yaş aralığı 20-57 (ortanca: 37) yıldır. Hastalarda CD4<sup>+</sup> T hücre sayısı 3-813 (ortanca: 243)/mm<sup>3</sup>; HIV-RNA yükü ise 1.5+E3 - 1.0+E7 (ortanca: 5.8+E5) IU/ml ara-



**Şekil 1.** HIV ile enfekte bireylerden izole edilen HIV-1 izolatlarında pol geni dizilerinin filogenetik analizi [Filogenetik ağaç, HIV-1 ters transkriptaz kangalı (kodon 41-232) dizilerek ve "neighbor-joining" analizi kullanılarak oluşturulmuştur. "Bootstrap" değeri 1000 olarak seçilmiştir. Filogenetik ağacın oluşturulmasında "CLC Sequence Viewer 6.5.1" programı kullanılmıştır. Referans dizileri; HIV-1 alttip A1: JQ585511; B: JN215195; C: HQ588277; D: DQ166435; F1:JQ585339; CRF01\_AE: DQ831433; CRF02\_AG: HQ542802; CRF03\_AB: EU345779; CRF12\_BF: FJ713233 ve HIV-2: JQ282154 şeklinde olup, GenBank'tan sağlanmıştır.]

sında değişmektedir. Çalışma grubunun klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 1'de görülmektedir.

Filogenetik analize göre İstanbul ilinde yedi ayrı HIV-1 M grubu alttipi dolaşımda bulunmaktadır. Çalışmamızda, beklenenin aksine alttip B (%43; 31/72) en sık karşılaşılan tip olmamış; en sık saptanan HIV-1 tipi CRF (%50; 36/72) olmuştur (Şekil 1). Ancak filogenetik ağaçta HIV-1 tipleri tek tek analiz edildiğinde alttip B en büyük HIV-1 grubunu oluşturmaktadır. Rekombinant suşlar sırasıyla; CRF02\_AG (%25; 18/72), CRF12\_BF (%12.5; 9/72), CRF03\_AB (%9.7; 7/72) ve CRF01\_AE (%2.8; 2/72) olarak dağılım göstermiştir. Ayrıca bazı HIV-1 alttiplerine ait alt-alttiplerin de [A1 (%4.2; 3/72), F1 (%2.8; 2/72)] dolaşımda olduğu görülmektedir. HIV-1 izolatlarının filogenetik dağılımı Şekil 1'de verilmiştir.

**Tablo 1. Çalışma Grubunun Klinik ve Laboratuvar Bulguları**

Özellik					
Hasta sayısı, n		72			
Cinsiyet, E/K (%)		58/14 (81/19)			
Yaş, ortanca yıl (sınırlar)		37 (20-57)			
CD4 <sup>+</sup> T-hücre sayısı, ortanca mm <sup>3</sup> (sınırlar)		243 (3-813)			
HIV-RNA yükü, ortanca IU/ml (sınırlar)		5.8+E5 (1.5+E3-1.0+E7)			
HIV bulaş yolu, n (%)	Heteroseksüel ilişki	46	(64)		
	Eşcinsel ilişki	23	(32)		
	Biseksüel ilişki	1	(1.3)		
	Diğer/bilinmeyen	2	(2.7)		
Klinik sınıflandırma <sup>a</sup>			Klinik kategori <sup>b</sup> , n (%)		
			A	B	C
	CD4 <sup>+</sup> T hücre sayısı	≥ 500	11 (15.3)	1 (1.3)	0
	kategorisi (hücre/μl)	200-499	31 (43)	0	0
	< 200	15 (21)	0	14 (19.4)	
Koenfeksiyon varlığı, n (%)	Pulmoner TB	4	(5.5)		
	Oral kandidoz	2	(2.7)		
	Serebral toksoplazmoz	1	(1.3)		
	CMV enfeksiyonu	1	(1.3)		
	VZV enfeksiyonu	1	(1.3)		
	Hepatit B	1	(1.3)		
	Sifiliz	1	(1.3)		
	Toplam	11	(14.7)		

**Tablo I. Çalışma Grubunun Klinik ve Laboratuvar Bulguları (Devamı)**

Özellik		Tedavi seçimi		
Antiretroviral tedavi durumu, n (%)	Tedavi naif Tedavi alan	İlaç (hasta sayısı)	Açıklama	
		57 (79)		
		15 (21)		
		NRTI	AZT (1)	Gebe olan hastanın gebelik sürecinde, iki ay süreyle AZT kullanım öyküsü vardır.
		NRTI + NNRTI	TDF /FTC + EFV (7)	İki hastada tedavi LMV/AZT + LPV/RTV olarak değişmiştir.
		LMV/AZT +	EFV (2)	Bir hastada tedavi LMV + LPV/RTV olarak değişmiştir.
			LMV/AZT + LMV (1)	Bu hastada tedavi önce LMV + NVP, sonra TDF/FTC + DRV + RTV olarak değişmiştir.
			LMV + EFV (1)	
		NRTI + PI	TDF/FTC + LPV/RTV (1)	
			LMV/AZT + LPV/RTV (3)	Bir hastada tedavi TDF/FTC + DRV + RTV; bir hastada ise LMV/AZT + EFV olarak değişmiştir.

<sup>a</sup>: Klinik sınıflandırma CDC'ye göre yapılmıştır<sup>15</sup>.

<sup>b</sup>: A: Asemptomatik, akut HIV ya da PGL; B: Semptomatik durum, A ve C değil; C: AIDS göstergesi olan durumlar. PGL: Persistan genel lenfadenopati; TB: Tüberküloz; NRTI: Nükleozid revers transkriptaz inhibitörü; NNRTI: Nonnükleozid revers transkriptaz inhibitörü; PI: Proteaz inhibitörü; AZT: Zidovudin; LMV: Lamivudin; TDF: Tenofovir; FTC: Emtrisitabin; EFV: Efavirenz; LPV: Lopinavir; RTV: Ritonavir; NVP: Nevirapin; DRV: Darunavir.

**Tablo II. Hastalarda Klinik ve Tedavi Kategorilerine Göre HIV-1 Altıtip Dağılımı**

HIV-1 altıtipi	CRF tipi	Tedavi durumu, n (%)		Toplam frekans (%)	Klinik kategori*, n				
		Naif grup	ART alan grup		A1	A2	A3	B1	C3
CRF		28 (49.1)	8 (53.4)	36 (50)	2	20	6	1	7
	CRF01_AE	2	-	2	1	1	-	-	-
	CRF02_AG	14	4	18	1	8	5	1	3
	CRF03_AB	4	3	7	-	2	1	-	4
	CRF12_BF	8	1	9	-	9	-	-	-
B		24 (42.2)	7 (46.6)	31 (43)	8	9	8		6
A1		3 (5.2)	-	3 (4.2)	1	1	1	-	-
F1		2 (3.5)	-	2 (2.8)	-	1	-	-	1
Toplam		57 (79)	15 (21)	72 (100)	11	31	15	1	14

\* CD4+ T lenfosit sayısı (hücre/μl) esas alınarak CDC'ye<sup>15</sup> göre yapılmış sınıflamadır. CRF: Dolaşan rekombinant form; ART: Antiretroviral tedavi.

ARV tedavi altındaki 15 hastanın HIV-1 altıtip dağılımına bakıldığında, yedisinin altıtip B, dördünün CRF02\_AG, 3'ünün CRF03\_AB ve 1'inin CRF12\_BF ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Çalışma grubunu oluşturan hastalarda HIV-1 altıtip dağılımı, tedavi durumuna ve CDC klinik kategorilerine göre Tablo II'de gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Çalışmamızın moleküler düzeydeki kanıtlarına göre; CRF'ler HIV-1 ile enfekte bireylerin yarısında tanımlanmakta, ardından altıtip B'nin ikinci sıklıkta en yaygın HIV-1 tipi olduğu anlaşılmaktadır (Şekil 1). HIV-1 altıtip dağılımının ARV tedavi ile ilişkisine bakıldığında, grubu oluşturan hasta sayısı düşük olmasına rağmen (n= 15) benzer bir dağılım görülmektedir (Tablo II). Ülkemizdeki ilk HIV-1 altıtip çalışması Yılmaz ve arkadaşları<sup>12</sup> tarafından yapılmış ve altıtip B predominant (%70.4) bulunmuştur. HIV-1 *env* geni gp41 bölgesinin analiz edildiği bu çalışmaya göre, ülkemizde herhangi bir CRF türü bulunmamakla birlikte altıtip A %14.8, alt-altıtip F1 %7.4, altıtip C %3.7 ve altıtip D %3.7 oranında bildirilmektedir<sup>12</sup>. Öte yandan güncel bir çalışmada, ülkemizden ilk HIV-1 CRF olgusu, hepatit B virusu (HBV) genotip D, altgenotip D1 koenfeksiyonu bulunan CRF02\_AG olgusu olarak bildirilmiştir<sup>16</sup>. Benzer olarak güncel bir çalışmada, primer lamivudin direnci (rtL180M + rtM204V) saptanan HBV genotip A altgenotip A2 koenfeksiyonlu HIV-1 altıtip B olgusu bildirilmiştir<sup>17</sup>. Çalışmamız, çeşitli sayıda HIV-1 CRF türlerini bildirmesi yönünden ilk olmakla birlikte, bunun nedeni son yıllarda küresel çapta HIV-1 CRF'lerde görülen artışın ülkemize yansması olabilir. 2000-2007 yılları arasında yapılan global çaptaki HIV-1 moleküler epidemiyolojik çalışmasına göre, CRF oranlarında artış, URF'de ise azalma saptanmaktadır<sup>7</sup>. Yılmaz ve arkadaşlarının<sup>12</sup> yaptığı öncül çalışmanın, bizim çalışmamıza göre metodolojik farklılıklar içermesi (*env* geni dizilemesi) ve olgu sayısının düşük olması da CRF türlerinin saptanmayışını açıklayabilir. Bu araştırmacıların çalışmasına göre, ülkemizde altıtip B dışı HIV-1 enfeksiyonlarının ortaya çıkışı Afrika, Balkanlar ve Orta Doğu'dan gelen göçmenleri işaret etmektedir<sup>12</sup>. Çalışmamızda



saptadığımız HIV-1 CRF'lerin sırasıyla Batı Afrika, Orta Afrika Orta Doğu ve Kuzey Afrika (CRF 02\_AG); Güney Doğu Asya, Doğu Asya ve Orta Afrika (CRF 01\_AE); Doğu Avrupa ve Orta Asya (CRF 03\_AB) ve Güney Amerika (CRF 12\_BF) kaynaklı olduğu anlaşılmaktadır<sup>7</sup>. Ayrıca, alt-alttip A1 ve F1 gibi diğer alttip B dışı enfeksiyonlar da ülkemizde dolaşımda bulunmaya devam etmektedir. Öte yandan, ARV tedaviler ve HIV-1 alttipleri arasındaki ilişkinin, ARV tedavi altında bulunan daha büyük bir çalışma grubunda analiz edilmesi yararlı olabilir.

Çalışmamızın demografik verileri, ülkemizde HIV-1 pozitif bireylerin çoğunun (%81) erkek olduğunu ve heteroseksüel ilişkinin en yaygın bulaş yolu (%64) olduğunu göstermektedir (Tablo I). Yılmaz ve arkadaşlarının<sup>12</sup> çalışmasında bu oranlar sırasıyla %81 ve %74 olarak saptanırken, bir başka çalışmada Almanya'da yaşayan 127 HIV pozitif göçmen Türk hastada yakın demografik özellikler (erkek cinsiyet %84, heteroseksüel bulaş %59) göze çarpmaktadır<sup>18</sup>. Ayrıca Almanya'da yaşayan Türk göçmenlerde yapılan bu ilk çalışmaya göre; alttip B en yaygın (%83) HIV-1 kökeni olarak belirlenmiş ve azalan oranlarda alttip A, CRF02\_AG, alttip C ve alttip G diğer tipler olarak saptanmıştır<sup>18</sup>.

UNAIDS/WHO'nun 2010 global durum raporu, Türkiye'nin kuzey doğu komşularından Gürcistan ve Ermenistan'da, 2001-2009 yılları arası için HIV enfeksiyonları insidans oranlarında değişiklik olduğunu (> %25) bildirmektedir<sup>1</sup>. Komşularımızın HIV-1 prevalanslarındaki bu olağan dışı artış, ülkemiz için önemli bir tehlike ve risk oluşturabilir. Bu nedenle, ülkemizde HIV-1 alttiplerinin düzenli olarak izlenmesi uygun olacaktır. Gürcistan'da, 48 tedavi naif HIV-pozitif bireyde yapılan bir çalışmada, *pol* dizilerinin filogenetik analizine göre HIV-1 alttip A (predominant,%70), alttip B (%26), alttip C (%2) ve CRF18\_cpx (%2) epidemiyolojik kökenler olarak saptanmıştır<sup>19</sup>. Ayrıca, Güney Kafkasya'da HIV/AIDS yayılma eğiliminin Doğu Avrupa'ya benzer olduğu, HIV/AIDS olgularının sürekli artmaya devam ettiği anlaşılmaktadır<sup>20</sup>.

HIV ile ilgili moleküler epidemiyolojik çalışmalar, o ülke içinde HIV alttip paternlerinin ve yayılma yollarının izlenmesinde, hastalığın progresyonunun ve gelişebilecek ARV ilaç direncinin anlaşılmasında önemli olabilir<sup>7</sup>. HIV-1 alttip B'nin daha çok eşcinsel, alttip C'nin ise heteroseksüel geçiş ile ilişkili olduğu ve alttip A'nın alttip D'ye göre heteroseksüel yolla daha yüksek oranda bulaştığına yönelik veriler bulunmaktadır<sup>7,21</sup>. Hastalığın progresyonu bağlamında, alttip A ve G'nin AIDS gelişiminden uzak yaşam süresi ile ilişkili olabildiği ve alttip B ile B-dışı alttiplerin yaygın olduğu bölgelerde HIV-1 patogenezinde dikkat çekici farklılıklar bulunduğu bildirilmektedir<sup>22,23</sup>. Orta Afrika'da yapılan bağımsız çalışma verilerine göre, benzer plazma viral yüklerine rağmen HIV-1 alttip D enfeksiyonlarının alttip A'ya göre daha hızlı progresyon gösterdiği anlaşılmaktadır<sup>7</sup>. Öte yandan ARV ilaç direnci ile ilişkili mutasyon ve mekanizmalarının anlaşılması, daha çok HIV-1 alttip B ile yapılmış çalışmalara dayanmaktadır<sup>6,7</sup>. Ayrıca HIV-1 alttip B dışı suşlarla enfekte bireylerde, immün sistem baskısının viral alttiplerin gelişiminde önemli bir rol oynayabildiği ve bunun doğal gelişen ARV ilaç direnci profilinde etkili olabileceği düşünülmektedir<sup>24</sup>. Özellikle CRF'lerin, ARV ilaçlara dirençli HIV varyantlarının gelişimine ne-

den olarak tedavilerde olumsuz sonuçlara yol açacağı ve bunun uzun dönemde hasta yönetimini zora sokacağı endişeleri bulunmaktadır<sup>6</sup>.

Etkin bir HIV sürveyans sistemimizin bulunmaması ve moleküler epidemiyolojik çalışmaların az sayıda olması nedeniyle ülkemizdeki HIV-1 alttipleri hakkındaki bilgilerimiz kısıtlıdır. HIV-1'in ülkemize hangi yollardan girdiğini ve nasıl yayıldığını anlamak ve enfeksiyonları kontrol edebilmek için HIV-1 ile enfekte bireylerde daha fazla moleküler epidemiyolojik temelli çalışmaya gereksinim bulunmaktadır. Ayrıca, ülkemizde tanımlanacak her HIV-1 alttip ve CRF'nin global çaptaki moleküler epidemiyolojik izlemlere katkı yapacağı bilinmelidir.

## KAYNAKLAR

1. World Health Organization. UNAIDS/WHO AIDS epidemic update 2010. Available at: [www.unaids.org](http://www.unaids.org)
2. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271(5255): 1582-6.
3. Smyth RP, Davenport MP, Mak J. The origin of genetic diversity in HIV-1. *Virus Res* 2012; 169(2): 415-29.
4. Mumtaz G, Hilmi N, Akala FA, et al. HIV-1 molecular epidemiology evidence and transmission patterns in the Middle East and North Africa. *Sex Transm Infect* 2011; 87(2): 101-6.
5. Skar H, Hedskog C, Albert J. HIV-1 evolution in relation to molecular epidemiology and antiretroviral resistance. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1230: 108-18.
6. Frankenberry KD, Galli A, Nikolaitchik O, et al. Mechanisms and factors that influence high frequency retroviral recombination. *Viruses* 2011; 3(9): 1650-80.
7. Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends Mol Med* 2011; 25(5): 679-89.
8. Kandathil AJ, Ramalingam S, Kannangai R, David S, Sridharan G. Molecular epidemiology of HIV. *Indian J Med Res* 2005; 121(4): 333-44.
9. Alp E, Bozkurt I, Doğanay M. Epidemiological and clinical characteristics of HIV/AIDS patients followed-up in Cappadocia region: 18 years experience. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(1): 125-36.
10. Sucaklı MB. Türkiye'de HIV/AIDS epidemiyolojisi ve kontrol programı. Klinik HIV/AIDS Sempozyumu. 26-27 Kasım 2011, Antakya. Erişim: [http://www.hatam.hacettepe.edu.tr/sunumlar\\_2011/SUNUMLAR/panel-12/Player.html](http://www.hatam.hacettepe.edu.tr/sunumlar_2011/SUNUMLAR/panel-12/Player.html)
11. Altuğlu I, Cavuşoğlu C, Çiçek C, Tünger O. Development of a database for tracking HIV positive/AIDS patients. *Mikrobiyol Bul* 2007; 41(1): 101-8.
12. Yılmaz G, Midilli K, Turkoglu S, et al. Genetic subtypes of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) in Istanbul, Turkey. *Int J Infect Dis* 2006; 10(4): 286-90.
13. European AIDS Clinical Society. EACS Guidelines, Version 6-October 2011. Erişim: [www.europeanaidsclinicalsociety.org](http://www.europeanaidsclinicalsociety.org)
14. Liu TF, Shafer RW. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis* 2006; 42(11): 1608-18.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for national human immunodeficiency virus case surveillance, including monitoring for human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR Recomm Rep* 1999; 48(RR-13): 1-27, 29-31.
16. Akhan S, Sayan M. HIV and acute HBV infection: First case report from Kocaeli, Turkey. 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL). 16-19 February 2012, Taipei, Taiwan.
17. Memiş Z, Sayan M, Başaran S, Çağatay A, Eraksoy H. Primer lamivudin dirençli HIV-1 subtip B ile koinfekte bir HBV genotip A subgenotip A2 olgusu. Ulusal Viral Hepatit Sempozyumu. 5-6 Mayıs 2012, Ankara.
18. Schuler E, Oette M, Balduin M, et al. HIV prevalence and route of transmission in Turkish immigrants living in North-Rhine Westphalia, Germany. *Med Microbiol Immunol* 2011; 200(4): 219-23.

19. Zarandia M, Tsertsvadze T, Carr JK, Nadai Y, Sanchez JL, Nelson AK. HIV-1 genetic diversity and genotypic drug susceptibility in the Republic of Georgia. *AIDS Res Hum Retrov* 2006; 22(5): 470-6.
20. Kvitsinadze L, Tvildiani D, Pkhakadze G. HIV/AIDS prevalence in the Southern Caucasus. *Georgian Med News* 2010; 189(12): 26-36.
21. van Harmelen J, Wood R, Lambrick M, Rybicki EP, Williamson AL, Williamson C. An association between HIV-1 subtypes and mode of transmission in Cape Town, South Africa. *AIDS* 1997; 11(1): 81-7.
22. Kanki PJ, Hamel DJ, Sankale JL, et al. Human immunodeficiency virus type 1 subtypes differ in disease progression. *J Infect Dis* 1999; 179(1): 68-73.
23. Cecilia D, Kulkarni SS, Tripathy SP, Gangakhedkar RR, Paranjape RS, Gadkari DA. Absence of coreceptor switch with disease progression in human immunodeficiency virus infections in India. *Virology* 2000; 271(2): 253-8.
24. Spira S, Wainberg MA, Loemba H, Turner D, Brenner BG. Impact of clade diversity on HIV-1 virulence, antiretroviral drug sensitivity and drug resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51(2): 229-40.