

Hepatit C Virus (HCV) Serolojik ve Moleküler Tanısı

Hepatit C virus (HCV), Flaviviridae ailesinden, bir RNA virusudur. Akut hepatitlerin %20'sinden, kronik hepatitlerin ise %70'inden HCV sorumlu tutulmaktadır. Yerleştikleri konakta **akut enfeksiyon, kronik enfeksiyon, siroz** ve **hepatosellüler karsinom** gibi ölümcül hastalıklara neden olurlar (1) .

HCV enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olarak görülebilmekte ve yaklaşık **300 milyon kişinin HCV ile enfekte olduğu** bildirilmektedir. **HCV enfeksiyonun seroprevalansı** bölgeden bölgeye farklılık göstermekte; Batı Avrupa ve Kuzey Amerikada %1 oranında oldukça düşükken, Ortadoğu ve Hindistanda % 1.4-2.1, Doğu Avrupa ve Afrika'nın bazı bölgelerinde %9.2-14.5 arasında değişmektedir. (1). Ülkemizde sağlıklı kişiler ya da kan donörlerinden yapılan seroprevalans çalışmalarında, anti-HCV pozitifliğinin % **0.3-1.8** arasında değiştiği saptanmıştır.(2).

Akut HCV enfeksiyonu en çok 20-39 yaşları arasında, kronik enfeksiyon ise 30-49 yaş arası özellikle Afrikalı Amerikalılar da sık görülmektedir (1).

Akut hepatit enfeksiyonun doğal seyrinde hastaların yaklaşık **%10-20'sinde iyileşme** oluşur. Bu enfeksiyonun 6. ayından sonra anti-HCV pozitifliğine rağmen (koruyucu değildir veya negatifleşebilir) HCV-RNA'nın negatif olması ve normal ALT düzeyi ile belirlenir. Yaklaşık **%25'inde** normal ALT düzeyine rağmen, **anti-HCV ile birlikte HCV RNA pozitifliği** devam eder. Diğer **%50-70 vakada ise kronik hepatit C** gelişir (1).

HCV enfeksiyonunun özgül tanısı; virusa karşı gelişmiş antikorların ya da doğrudan vireminin gösterilmesi ile yapılmaktadır.

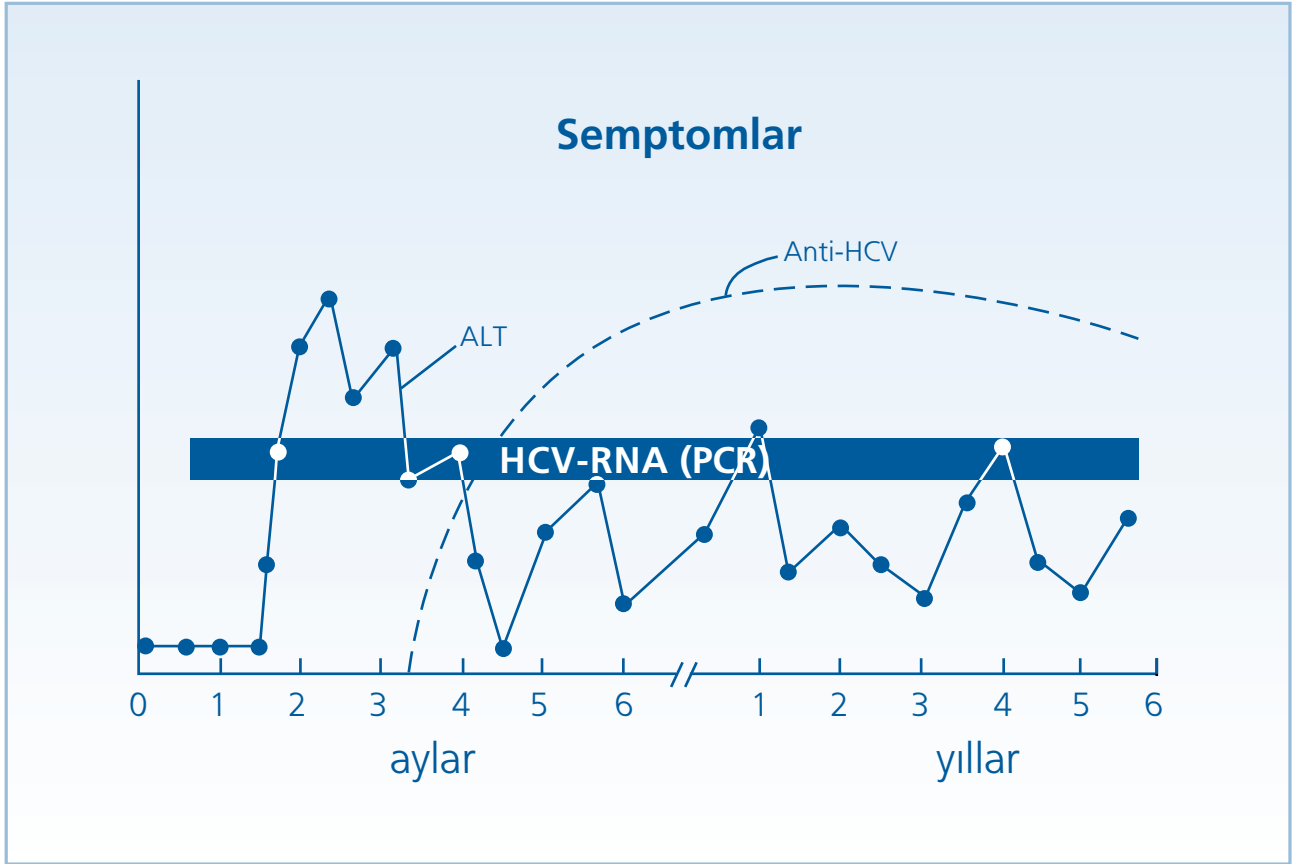
HCV'nin bulaşma yolları

- Parenteral**
 - Kan ve kan ürünleriyle temas ve transfüzyon
 - Hemodiyaliz
 - Damardan uyuşturucu kullanımı
 - Transplantasyon
 - Kontamine iğne, enjektör, bistüri, sonda, endoskop vb.
 - Oral cerrahi
 - Akupunktur, dövme, kulak delme, traş vb.
- Non-parenteral**
 - Cinsel temas
 - Perinatal (Doğum sırasında bulaş, cilt sıyrıkları, mukoza penetrasyonu, vaginal kanaldan geçiş, sezaryan sırasında anne kanıyla temas, plasenta hasarı sonucu fetal ve maternal dolaşımın karışması)
- Horizontal?** (Horizontal bulaşmayı gösteren epidemiyolojik bulgulara rağmen, bu bulaşmanın nasıl olduğu tam olarak bilinmemektedir.)

HCV enfeksiyonu açısından riskli gruplar

- Yüksek risk**
 - İntravenöz ilaç bağımlıları
 - Birden çok transfüzyon yapılanlar
 - Trasplant alıcıları
 - Hemodiyaliz hastaları
- Düşük risk**
 - Homoseksüeller (birden çok partner)
 - HCV enfeksiyonluların eşleri veya partnerleri
 - Mental özürllüler
 - Aile içi bulaşma
 - Perinatal geçiş
 - Sağlık personeli
 - Alkolikler

HCV İnfeksiyonunun Serolojik Tanısı



Şekil 1: Akut HCV infeksiyonunun seyri

Anti-HCV total: Akut hepatit C'de antikor gelişme süresi 4-24 hafta arasında olup; ortalama 8-10 haftadır. Akut hepatit C'de transaminazlarda artış ile anti-HCV pozitifleşmesi arasında seronegatif pencere dönemi bulunmaktadır. Günümüzde antikor testi olarak, en çok hepatit C'nin çeşitli antijenlerine karşı gelişen **3. ve 4. kuşak ELISA** testleri kullanılmaktadır. Akut HCV infeksiyonunun seyri sırasında antikor cevabı, şekil 1'de gösterilmiştir.

Daha az sıklıkla kullanılan diğer test ise HCV antijenlerinin nitrosellüloz şeritler üzerine ayrı ayrı yerleştirilen ve her bir antijene özgü antikor varlığının araştırılması temeline dayanan **rekombinan immüno blot testi (RIBA)** dir. Birden fazla bantın görülmesi, testin pozitif olduğunu gösterir. ELISA testinin desteklenmesi ya da doğrulanması için kullanılır. Gerek RIBA, gerekse benzer testlerde tek bir antijene bağlanma sınır değeri (indeterminate) olarak değerlendirilir. Bu tür sonuçlar alındığında, **HCV RNA'nın PCR yöntemi ile doğrulanması gerekir** (3).

Anti-HCV IgM: HCV'nin core proteinine karşı gelişen IgM antikorunu hepatitin başlangıcından kısa bir süre sonra ortaya çıkmakta ve **yeni geçirilmiş infeksiyonlarda sıklıkla pozitif bulunmaktadır**. Bunun yanında bir çok olguda; akut

dönemde anti-core IgM pozitifliği IgG ile eş zamanlı ya da kısa süre önce ortaya çıktığından; akut infeksiyonda tanı değeri yoktur. Yapılan çalışmalarda, iyileşen infeksiyonlarda IgM pozitifliğinin yaklaşık 6 ay sonra kaybolduğu; kronikleşen olgularda ise pozitifliğinin devam ettiği bildirilmektedir (4).

HCV core Antijen: Seronegatif pencere döneminde; **erken HCV infeksiyonunun tanısında** kullanılmaya başlanmıştır. Bu testle ilgili çalışmalar devam etmektedir (5)

Hangi hastada HCV infeksiyonunun kronikleşeceğini bilmek mümkün değildir. Ancak kronikleşme riskinin daha fazla olduğu durumlar belirlenmiştir.

Akut HCV infeksiyonunda kronikleşme riskini arttıran özellikler

- Parenteral bulaşma
- Birden çok tranfüzyon öyküsü
- Akut dönemde ciddi semptomlar
- Akut dönemde yüksek ALT düzeyi
- Yüksek titre anti-HCV pozitifliği
- Erkek cinsiyet
- 40 yaşından daha büyük kişilerde

HCV Enfeksiyonunun Moleküler Tanısı

HCV enfeksiyonunun tanısında, antikor testleriyle alınan bir sonucun, geçmiş bir enfeksiyon mu yoksa devam eden bir enfeksiyona mı ait olduğunu belirlemek olanaklı değildir. Bu nedenle, **replikasyonun göstergesi olan HCV RNA'nın gösterilmesi zorunlu olmuştur** ve son yıllarda gittikçe önem kazanmıştır (3).

HCV RNA'nın belirlenmesinde sıklıkla nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinden PCR kullanılmaktadır. **PCR** (Polymerase Chain Reaction = Polimeraz zincir reaksiyonu) bilinen en eski amplifikasyon yöntemlerinden birisidir. Bu yöntem in vitro olarak DNA'nın hedef bölgesinin çoğaltılması ve çoğaltılan bölgenin jel elektroforezinde yürütülerek saptanmasıdır.

HCV tanısında kullanılan PCR yöntemleri

Kalitatif PCR: Çoğaltılan PCR ürünü elektroforeze tabi tutulduktan sonra nitrosellüloz bir membrana nakledilir. Daha sonra radyoaktif, kemilüminesans ya da son yıllarda kullanılan kolorimetrik işaretleme ile membran hibridize edilerek, sonuç değerlendirilir. HCV tanısında kullanılan **kalitatif PCR'in, HCV-RNA saptama miktarı 10-50 IU/ mL dir.**

Kantitatif PCR: Viral yük tayinini saptamaya yöneliktir. Bu yöntemle özellikle immün düşük hastalarda, **hastalığın seyrinin takibinde** yada **antiviral tedavinin** izlenmesinde

önem kazanmıştır. **HCV-RNA saptama miktarı 600 IU/ mL dir.**

PCR yönteminin değişik uygulamaları geliştirilmiş; özellikle son yıllarda rutin laboratuvarlarda mikrobiyolojik tanı amacıyla otomatize sistemler kullanılmaya başlanmıştır. Propa dayalı **RT-PCR yöntemi** ile çok düşük miktarlarda **HCV-RNA 10-50 IU/ mL** tespit edilebilmektedir. Özellikle antiviral tedavinin izlenmesinde; virus yükünün kantitatif olarak gösterilmesinde PCR yönteminin önemi büyüktür.

HCV RNA Testinin Klinik Önemi

- Akut HCV enfeksiyonunun erken tanısını belirlemek:** HCV-RNA, semptomlar başlamadan, virusun konağa girişinden yaklaşık 3-15 gün sonra saptanmaya başlar.
- Sınırdaki anti-HCV test sonuçlarını değerlendirmek**
- Perinatal bulaşmayı göstermek**
- Antiviral tedavi alan hastalarda, hastalığın seyrini izlemek:** Hızlı ve devamlı HCV-RNA düşüşü tedavinin başarısını gösterir.
- Kanların enfeksiyözitesini ve sterilizasyon araçlarının HCV açısından değerlendirmesini yapmak.**

Anti-HCV negatif olduğu halde HCV-RNA saptanan durumlar

- İmmün suprese hastalarda antikor yanıtta yetersizlik
- Hastanın seronegatif pencere döneminde olması

Anti-HCV pozitif olduğu halde HCV-RNA saptanmayan durumlar

- HCV latent veya inaktif enfeksiyonda seropozitifliğin devam etmesi
- HCV viremi düzeyinin kullanılan yöntemin saptayabildiği düzeyden düşük olması
- HCV-RNA'nın yalancı negatifliği veya HCV'nin aralıklı salınımıyla aynı hasta için değişken PCR sonuçlarının elde edilmesi (6).

Sonuç olarak, anti-HCV pozitif hastalarda HCV RNA araştırılması takip ve tedavi açısından gereklidir. Anti-HCV negatif viremili hastaların saptanmasında özellikle şüpheli ve serokonversiyon gelişmeyen olguların aydınlatılabilmesinde veya uygulanacak tedavi etkinliğinin izlenmesinde PCR rutin kullanılması gereken bir yöntemdir (6).

HCV Genotiplendirmesi

HCV ile ilgili genotip çalışmaları dünyada olduğu gibi ülkemizde de son yıllarda artmıştır. HCV'de en az **6 genotip, 40'dan fazla subtip** bulunmaktadır. Bu genotipler dünyada farklı bölgelerde farklı dağılım göstermektedir. **Amerika'da** en çok görülen **genotip tip 1 (% 75)**; **Japonya ve Avrupa'da ise tip1 dışında ki genotipler**, daha sık görülmektedir. Son yıllarda özellikle **intravenöz ilaç bağımlılarında tip 4** oranı gittikçe artmıştır.

Ülkemizde kronik hepatit, hemodiyaliz hastaları ve kan donörleri ile yapılan çalışmaların sonuçları birbirine paralel olup **genotip 1 (özellikle genotip 1b)** en büyük kısmı oluşturmaktadır (1,3,7,8).

HCV enfeksiyonu sonrası karaciğer kanseri gelişimi genellikle sirozdan sonra ortaya çıkmasına karşın, son zamanlarda özellikle **genotip 1b** ile enfekte olmuş bireylerde siroz ara dönemi olmaksızın **hepatoselüler karsinom** gelişebildiği gösterilmiştir. Ayrıca genotip 1b'nin **interferon tedavisine en kötü yanıt** verdiği bilinmektedir (1,7).

HCV enfeksiyonunda farklı genotiplerin, oluşacak hastalık tablosunu farklı biçimlerde etkilediği, tedaviye yanıtta genotipler arasında fark olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. **Bu da HCV'in genotiplendirmesinin ne kadar gerekli olduğunu göstermektedir.**

Referans Kaynaklar

1. Thomas DL, Leman SM: Hepatitis C. In Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, ed. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5.th ed. New York, Churchill Livingstone; 2000.
2. Mıstık R, Balık İ: Türkiye’de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. In Kılıçturgay K, Badur S ed. Viral Hepatit 2001, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 10, 2001.
3. Yenen Ş: Viral Hepatitler. In Willke TA, Söyletir G, Doğanay M, ed. Enfeksiyon Hastalıkları. 1 th ed. İstanbul, Nobel Tıp, 700, 1996.
4. Quiroga JA, Bosch O, Gonzales R ve ark. Immunoglobulin M antibody to hepatitis C virus during interferon therapy for chronic hepatitis C. Gastroenterology , 1285, 1992.
5. Lorenzo J, Castro A, Aguilera A, et al: Total HCV core antigen assay. A new marker of HCV viremia and its application during treatment of chronic hepatitis C. J. Virol. Methods, 173, 2004.
6. Bayraktar B, Şensoy AE, Bulut B, et al: Hepatit C enfeksiyon şüpheli olgularda Enzim Immunoassay (EIA) ve Cobas Amplicor HCV-RNA test sonuçlarının karşılaştırılması, Türk Mikrobiol. Cem. Derg. 266, 2003.
7. Arslan H, Tunçbilek S, Hızal N, Boyacıoğlu S, Özdemir N, Haberal M. Hemodiyaliz ve hemodiyaliz dışı hastalarda HCV genotipinin dağılımı. Viral Hepatit Derg. 127, 1999.
8. Payan C, Roudot TF, E at al: Changing of hepatitis C virus genotype patterns in France at the beginning of the third millenium: The GEMHEP GenoC11 Study. J. Viral Hepat. 405, 2005.

