

TC
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ve KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI



HEMODİYALİZ HASTALARINDA GİZLİ HEPATİT B VE GİZLİ HEPATİT C
ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖZLEM ZANAPALIOĞLU GAZEL

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. ALPER ŞENER

Çanakkale/2015

TC
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

HEMODİYALİZ HASTALARINDA GİZLİ HEPATİT B VE GİZLİ HEPATİT C
ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. ÖZLEM ZANAPALIOĞLU GAZEL

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. ALPER ŞENER

Çanakkale/2015

Bu araştırma Anatolia GeneWorks Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri Ar – Ge A.Ş
ve Viral Hepatitle Savaşım Derneği tarafından desteklenmiştir.

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanlık çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından DR. Özlem ZANAPALIOĞLU GAZEL'in **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 02/10/2015

TEZ KONU BAŞLIĞI
Hemodiyaliz Hastalarında Gizli Hepatit B ve Gizli Hepatit C Enfeksiyonunun Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Alper ŞENER

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı

Prof. Dr. Metin OTKUN

Prof. Dr. Reşit MISTIK

Doç. Dr. Alper ŞENER

İmzası

.....
.....
.....

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulunun 05/10/2015 tarih ve /2015/27... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU

.....
Dekan

Dekan

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde emeği geçen, asistanlığım boyunca gerekli tüm bilgi ve becerileri şahsıma aktaran tez danışmanı hocam sayın Doç. Dr. Alper ŞENER'e, bilgi ve deneyimleri ile her zaman desteğini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Ali Metin OTKUN'a en derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve deneyimleri ile katkıda bulunan sayın hocam Prof. Dr. Suzan SAÇAR'a , asistan arkadaşlarıma, birlikte çalıştığımız tüm hemşire arkadaşlarıma ve her zaman yardımlarını gördüğüm Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Klinik Mikrobiyoloji rotasyonum sırasında ve diğer uzmanlık eğitim sürecinde bilgi ve becerilerini yorulmadan özveri ile aktaran, deneyimleri ile her zaman desteğini gördüğüm sayın hocam Prof. Dr. Müşerref TATMAN – OTKUN'a, bilgi ve becerilerinden yararlandığım sayın hocam Doç. Dr. Alper AKÇALI'ya teşekkür ederim.

İstatistiksel değerlendirmelerde yardımları için sayın hocam Doç. Dr. Coşkun BAKAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında değerli katkılarından dolayı sayın hocam Doç . Dr. Murat SAYAN'a, tez çalışmasının başlamasında ve ilerlemesinde verdikleri desteklerinden dolayı Özel Dardanel Diyaliz Merkezi Sorumlu Hekimi Dr. Cem Haydar ERPULAT'a, Başhemşire Muhteber İRTEM'e, tez çalışmamı sonuçlandırmamda maddi desteklerinden dolayı Anatolia GeneWorks Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri Ar – Ge A.Ş. olarak sayın Alper AKYÜZ ve sayın Dr. Elif AKYÜZ'e ayrıca Viral Hepatitle Savaşım Derneği'ne çok teşekkür ederim.

Benim için hayatımda her zaman arkamda desteklerini hissettiğim anneme, babama, kardeşime, hakkını aramayı bilen ve bana da öğreten eşim Deniz GAZEL'e çok teşekkür ederim.

'Hayatta en hakiki mürşit ilimdir fendir, ilim ve fenden başka yol gösterici aramak gaflettir, dalalettir, cehalettir.' Mustafa Kemal ATATÜRK

Dr. Özlem ZANAPALIOĞLU GAZEL

ÖZET

HEMODİYALİZ HASTALARINDA GİZLİ HEPATİT B VE GİZLİ HEPATİT C ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE ARAŞTIRILMASI

Hemodiyaliz hastaları parenteral yolla bulaşan hepatit virüsleri için risk altındadırlar. Serumda HBsAg yokluğunda tespit edilen HBV – DNA varlığına gizli hepatit B enfeksiyonu denilirken, serumda anti – HCV ve HCV – RNA yokluğunda periferik kandaki mononükleer hücrelerde HCV – RNA varlığına gizli hepatit C enfeksiyonu denilmektedir.

Amaç: Bu çalışmada hemodiyaliz hastalarında polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle gizli hepatit B enfeksiyonu ve gizli hepatit C enfeksiyonu varlığı araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem-Bulgular: Çalışmaya dahil edilen alanin aminotransferaz (ALT) seviyeleri normal olan 100 hemodiyaliz hastasının demografik verileri, böbrek yetmezlik nedenleri, hemodiyalize giriş yolu, hemodiyaliz süresi, ALT seviyesi, hepatit göstergeleri mevcut dosyalarından çalışma takip formuna kaydedildi. Serumda anti – HBc IgG enzim linked immunosorbent assay (ELISA) (Architect, Abbott) ile test edildi. Serum HBV – DNA , HCV – RNA ve periferik kanda mononükleer hücrelerde HCV – RNA ‘gerçek zamanlı’ polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile araştırıldı.

%27 hastada anti – HBc IgG pozitifliği saptanırken izole anti –HBc IgG pozitifliğine rastlanmadı. %4 hastada serumda HBV – DNA pozitifliği ile gizli HBV enfeksiyonu tespit edildi ve bu hastaların hepatit göstergelerinden yalnızca anti –HBs’nin pozitif olduğu gözlemlendi. Hastaların hiçbirinde serumda ve PKMNH’de HCV – RNA pozitifliği yoktu dolayısıyla gizli HCV enfeksiyonu saptanamadı.

Sonuç: Hemodiyaliz hastalarında gizli HBV enfeksiyonu varlığının düşük sıklıkla olsa da görülebileceği saptanmıştır. HBV bulaşını önlemek için sadece

serolojik testlerle virüs varlığının araştırılmasının yeterli olmayacağı, dolayısıyla 'gerçek zamanlı ' polimeraz zincir reaksiyonu gibi duyarlılığı daha yüksek testlerle bu hastaların taranmasının uygun olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: hepatit B, hepatit C, PZR, hemodiyaliz

SUMMARY

INVESTIGATION of OCCULT HEPATITIS B and HEPATITIS C INFECTIONS BY POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) AMONG HEMODIALYSIS PATIENTS

Hemodialysis patients are under risk for hepatitis viruses which can transmit by parenteral route. Detection of the HBV-DNA (AÇ) in the absence of HBsAg antigen in the serum is called occult hepatitis b infection. Detection of the HCV-RNA () in mononuclear cells () from peripheral blood during the absence of anti-HCV and HCV-RNA in the serum is called occult hepatitis c infection.

Aim: In this study, among hemodialysis patients, we aimed to investigate the occult hepatitis b and c infections by PCR method.

Method and results: 100 hemodialysis patients with normal Alanin Amino Transpherase (ALT) values were included in the study. Demographic datas, causes of renal failure, hemodialysis method-duration, ALT values and hepatitis markers were recorded from the previous patient files.

In the serum, antiHBcIgG values were investigated by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)(Architect, ABBOT, USA). HBV-DNA, HBV-RNA in the serum and HCV-RNA in the mononuclear cells were investigated by real time PCR method.

Anti HBcIgG was found positive at 27 % of the patients. No isolated anti HBcIgG positive result was detected. In the serum, by detection of HBV-DNA, occult hepatitis b positivity was observed at 4 % of the patients. In these patients, only anti HBs marker was positive among the hepatitis markers. We

could not detect any HCV-RNA in either serum or mononuclear cells of the patients. So we could not detect any occult HCV infection.

Conclusion: Among the hemodialysis patients, occult HBV infections may be detected even if it is rare. We think that, to prevent transmission of HBV infections, it is not enough to investigate the existence of the viruses by only routine serological tests. At these patients, viruses should also be investigated by real time PCR as a screening test.

Key words: Hepatitis B, hepatitis c, PCR, hemodialysis

İÇİNDEKİLER

İç kapak	i
Kabul-onay sayfası	ii
Teşekkür	iii
Özet ve anahtar sözcükler	iv
Summary and key words	vi
İçindekiler	viii
Kısaltmalar ve simgeler dizini	xi
Şekiller dizini	xiv
Tablolar dizini	xv
Giriş ve Amaç	1
Genel Bilgiler	3
2.1. Hepatit B Virusü	3
2.1.1. Hepatit B Virusü yapısı	3
2.1.2. Hepatit B Virusü genomu	4
2.1.3. Viral Replikasyon	6
2.1.4. Hepatit B Virusü Genotipleri	8
2.1.5. Hepatit B Virusü Mutasyonları	9
2.2. Hepatit B Virusü Epidemiyolojisi	11
2.2.1. Hepatit B Virusü Enfeksiyonu Prevalansı	11
2.2.2. Hepatit B Virusü Bulaş Yolları	12
2.3. Hepatit B Virusü Enfeksiyonu	13
2.3.1. Hepatit B Virusü Enfeksiyonu Tanısı	17
2.3.1.1. Serolojik Tanı	17
2.3.1.2. Direkt Tanı Yöntemleri	18
2.3.1.2.1. Hücre Kültürü	18
2.3.1.2.2. Viral Antijen Gösterilmesi	18

2.3.1.2.3. Moleküler Tanı Yöntemleri	18
2.4. Gizli Hepatit B Virusu Enfeksiyonu	20
2.4.1. Gizli Hepatit B Virusu Enfeksiyonu Tanımı	20
2.4.2. Gizli Hepatit B Virusu Enfeksiyonu Oluşumunda Olası Mekanizmalar	21
2.4.3. Gizli Hepatit B Virusu Enfeksiyonu Klinik Önemi	24
2.4.4. Gizli Hepatit B Virusu Enfeksiyonu Serolojik ve Moleküler Tanı	27
2.4.5. Gizli Hepatit B Virusu Enfeksiyonu ve Hemodiyaliz	28
2.5. Hepatit C Virusu	30
2.5.1. Hepatit C Virusu Yapısı	30
2.5.2. Hepatit C Virusu Genomu	31
2.5.3. Hepatit C Virusu Genotipleri	34
2.6. Hepatit C Virusu Epidemiyolojisi	35
2.6.1. Hepatit C Virusu Enfeksiyonu Prevalansı	35
2.6.2. Hepatit C Virusu Bulaş Yolları	36
2.7. Hepatit C Virusu Enfeksiyonu	38
2.7.1. Hepatit C Virusu Enfeksiyonu Tanısı	40
2.7.1.1. Serolojik Tanı	40
2.7.1.2. Moleküler Tanı	42
2.8. Gizli Hepatit C Virusu Enfeksiyonu	43
2.8.1. Gizli Hepatit C Virusu Enfeksiyonu Tanımı	43
2.8.2. Gizli Hepatit C Virusu Enfeksiyonu Oluşumunda Olası Mekanizmalar	44

2.8.3. Gizli Hepatit C Virusü Enfeksiyonu Klinik Önemi	46
2.8.4. Gizli Hepatit C Virusü Enfeksiyonu Moleküler Tanı	48
2.8.5. Gizli Hepatit C Virusü Enfeksiyonu ve Hemodiyaliz	49
Gereç ve Yöntem	50
3.1. Hastaların Seçimi	50
3.2. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması	50
3.3. Kullanılan Sistem ve cihazlar	51
3.4. Gizli Hepatit B Virusü Enfeksiyonu Tanımı	51
3.5. Gizli Hepatit C Virusü Enfeksiyonu Tanımı	51
Bulgular	52
Tartışma	56
Sonuç ve Öneriler	68
Kaynaklar	69

KISALTMALAR VE SİMGELER

ALT	: Alanin aminotransferaz
ANA	: Anti nükleer antikor
Anti - HBc IgG	: Hepatit B cor antijenine karşı gelişen antikor
Anti - HBs	: Hepatit B yüzey antijenine karşı gelişen antikor
Anti – Hbe	: Hepatit B ‘e’ antijenine karşı gelişen antikor
Anti – HCV	: HCV’ye karşı gelişen antikor
Anti – LKM	: Anti liver/kidney mikrozomal antikor
APOBEC	: Apolipoprotein B mRNA aracılı enzim katalitik polipeptid
ASMA	: Anti düz kas antikor
ccc – DNA	: covalently closed circular DNA
CDC	: Centers for Diseases Control and Prevention
CD	: cluster of differentiation
DHBV	: Duck Hepatit Virüsü (Ördek Hepatit B Virüsü)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E	: Envelope (zarf)
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbant Assay
EPO	: Eritropoetin
G	: Gravity
GGT	: gamaglutamil transferaz
gp	: glikoprotein
HBsAg	: Hepatit B yüzey antijeni

HBcAg	: Hepatit B kor antijeni
HBeAg	: Hepatit B 'e' antijeni
HBxAg	: Hepatit B 'x' antijeni
HBV	: Hepatit B Virüsü
HBIG	: Hepatit B İmmünglobülin
HCV	: Hepatit C Virüsü
HDV	: Hepatit D Virüsü
HD	: Hemodiyaliz
HIV	: Human Immundeficiency Virus
HSK	: Hepatosellüler karsinom
HVR	: Hipervariable region
Ig	: İmmünglobulin
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IRES	: Internal ribosomal entry site
IU	: International Unit
Kb	: kilobaz
KAH	: Kronik aktif hepatit
KHB	: Kronik hepatit B
KBY	: Kronik Böbrek Yetmezliği
KPH	: Kronik persistan hepatit
LHBs	: Büyük Hepatit B yüzey antijeni
MHBs	: Orta Hepatit B yüzey antijeni
ml	: mililitre
mRNA	: mesajcı RNA

nm	: nanometre
NIH	: National Institutes of Health
NS	: Nonstructural
ORF	: Açık okuma bölgesi
p	: protein
pgRNA	: pregenomik RNA
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PKMNH	: Periferik Kanda Mononükleer Hücreler
qHBsAg	: HBsAg kuantifikasyonu
RIBA	: Recombinant Immunblot Assay
RNazH	: Ribonükleaz H
rpm	: dakikadaki döngü sayısı (revolution per minute)
rt – DNA	: reverse transkriptaz DNA polimeraz
SHBs	: Küçük Hepatit B yüzey antijeni
SNP	: Single nükleotid polimorfizm
Th	: yardımcı T hücresi
TNF	: Tümör nekrozis faktör
UTR	: Untranslated region
WHBV	: Wood – chuck Hepatit B Virüsü (Ağaçkakan HBV)
YMDD	: Tirozin-Metiyonin-Aspartat-Aspartat motifi

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.1. Dane patikülü, sferik ve filamentöz partiküllerin Elektron mikroskopik görünümü	4
Şekil 2.1.2. HBV virionunun şematik yapısı	5
Şekil 2.1.3. HBV genomik organizasyonu ve sentezlenen RNA'lar	6
Şekil 2.1.4. HBV replikasyonunun şematik gösterimi	8
Şekil 2.5.1. HCV virionunun şematik yapısı	30
Şekil 2.5.2. HCV genomu organizasyonu ve viral poliproteinler	31

TABLULAR

Tablo 2.4.1. Özel hasta gruplarında gizli HBV enfeksiyonu prevalansı	25
Tablo 2.4.2. Hepatit B enfeksiyonunda serolojik profiller	27
Tablo 2.8.1. Kriptojenik kronik hepatit hastalarında gizli HCV enfeksiyonu	47
Tablo 4.1. Hastaların genel özellikleri	52
Tablo 4.2. Hastaların altta yatan hastalıkları	53
Tablo 4.3. Anti – HBc IgG pozitif olan hastaların genel özellikleri	54
Tablo 4.4. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların genel özellikleri	55
Tablo 4.5. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların hepatit belirteçleri	55

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) hastalarında, enfeksiyonlar önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Bu hastalar özellikle parenteral yolla bulaşan viral hepatitler açısından risk altındadır. KBY hastalarında hemodiyalizin vasküler girişim gerektirmesi, çok sayıda hastanın aynı ortamda hemodiyalize girmesi (kontamine eller, çevresel yüzeyler gibi), hastalardaki immunsupresyonun enfeksiyonlara duyarlılığı arttırması, sık hastaneye yatış ve cerrahi girişim enfeksiyon riskini arttıran başlıca faktörlerdir (1).

Hepatit B ve C virüsleri primer olarak parenteral yolla bulaşmaktadır. Kronik hepatit B ve C, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda normal popülasyona göre sık rastlanan enfeksiyon etkenleri olup, kronik böbrek yetmezlikli hastalarda (diyaliz programında olan – olmayan) ve böbrek transplantasyon uygulanan hastalarda morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden bir tanesidir (2). Ülkemizde hemodiyaliz hastalarında Türk Nefroloji Derneği 2013 verilerine göre % 4,01 hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) pozitifliği ve %6,94 anti – HCV pozitifliği gözlenmektedir (3).

Hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonunun iyileşmesi, HBsAg kaybolması ile birlikte serumda HBV – DNA'nın negatifleşmesi ve hepatit B yüzey antikorlarının (Anti – HBs) pozitifliği olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyonun belirlenmesinde serolojik göstergelerin saptanması önemli olmakla birlikte yetersiz de kalabilmektedir. Kendiliğinden veya tedavi ile serolojik olarak HBsAg'si kaybolan bazı hastalarda serum ve/veya karaciğerde hassas polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) teknikleri ile düşük düzeyde HBV – DNA varlığı gösterilmiştir. Böylece saptanamayan HBsAg ile birlikte kronik HBV enfeksiyonunu tanımlayan bu durum gizli HBV enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır (4).

Karaciğer enzim anormalliği olan hastaların %10'unda karaciğer hastalığının nedeni bilinmemektedir. Geçtiğimiz son dekatta etiyolojisi

aydınlatılmamış kronik karaciğer hastalığı olanlarda yapılan çalışmalar ile gizli hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi ; serumda anti – HCV ve HCV – RNA negatif iken karaciğer hücrelerinde HCV – RNA varlığının saptanmasıdır . İkincisi ise; karaciğer fonksiyon testlerinde nedeni bilinmeyen bozukluğun olduğu hastaların serumunda anti – HCV ve HCV – RNA negatif iken , karaciğer ve periferik kanda mononükleer hücreler (PKMNH)'de HCV – RNA tespit edilmesidir . Gizli HCV enfeksiyonu olan hastaların %70'in üzerinde PKMNH'de viral RNA tespit edilebilmektedir (5,6). Anormal karaciğer fonksiyon testleri olan hemodiyaliz hastalarında gizli HCV enfeksiyonunun varlığını kanıtlayan çalışmaların aksine, bu enfeksiyonun normal karaciğer fonksiyon testleri olan hastalarda da görülebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (8).

Gizli HBV enfeksiyonunun kesin tanısı için serolojik negatif olgularda en duyarlı yöntemlerden biri olarak serumda HBV – DNA incelenmesi önerilmektedir(7).

HCV ile yeni temas durumunda ve anti – HCV antikorları gelişmeyen kronik, ancak teması devam eden hastalarda HCV enfeksiyonunun tanısında tek başına anti – HCV saptayan testlerin kullanılmaması gerekmektedir (9). PZR kullanılarak HCV – RNA tespit edilebilir ve bu uygulama tanı koymanın yanı sıra kaynak kontrolüne de olanak sağlayabilir (8).

Bu çalışmada hemodiyaliz hastalarında gizli HBV ve gizli HCV enfeksiyonunun varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit B Virüsü

2.1.1. Hepatit B Virüsü Yapısı

Hepatit B virüsü (HBV) küçük DNA virüsleri olan Hepadnaviridae ailesinin Orthohepadnavirus cinsinde yer alır. Ailenin diğer üyeleri olan kuş ve memeli virüsleri gibi, dar bir konak spektrumu ve doku tropizmine sahiptir. İnsanları enfekte etmeyen ancak HBV'ye %70'e varan genomik dizi benzerliği gösteren ördek hepatit B virüsü (DHBV) ve ağaçkakan hepatit B virüsü (WHBV), virüs replikasyonu ve persistansını incelemek için uygun modellerdir (10, 11).

HBV yapısını araştırmak amacıyla; akut ve kronik hepatit hastalarının serumları ultrasantrifügasyon işlemini takiben yapılan elektron mikroskopik incelemelerde büyüklük, yapı ve miktar gibi özellikler bakımından birbirine benzemeyen üç farklı viral partikül saptanmıştır (10).

1. Dane partikülleri; 42 nm (42-47) çapında tam bir virion yapısında, küresel şekilli enfeksiyöz partiküllerdir.
2. Küresel (sferik) partikülleri; 22 nm (17-25) çapında nükleik asit içermeyen, enfeksiyöz olmayan partiküllerdir.
3. Tübüler (filamentöz) partiküller; 22 nm (17-25) çapında 100-200 nm uzunluğunda, içinde nükleik asit bulunmayan ve özellikle replikasyonun söz konusu olduğu kişilerin serumunda bulunan enfeksiyöz olmayan partiküllerdir

Her üç partikül de HBsAg'ye sahip olup, immunojeniktirler. Aşı üretiminde enfeksiyon oluşturmeyen HBsAg içeren partiküller kullanılır. Enfekte hastaların serumlarında 10^{10} virion / ml virüs konsantrasyonu bulunmaktadır(12).



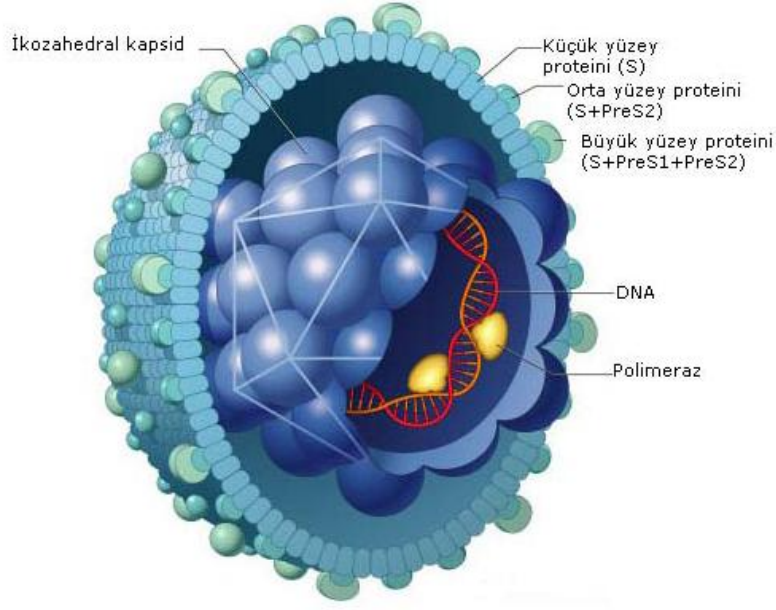
Şekil 2.1.1. Dane Partikülü, sferik ve filamentöz partiküllerin elektron Mikroskobu görüntüsü (11)

2.1.2. Hepatit B Virüsü Genomu

HBV; bilinen hayvan virüsleri içinde en küçük genoma sahip olan zarflı bir DNA virüsüdür. Diğer DNA virüslerinden farklı özelliklere sahiptir. Viral genom yaklaşık 3200 nükleotidden oluşan oldukça küçük ve kısmen çift (~%70), kısmen tek iplikli (~%30) çembersel DNA'dan oluşur ve ikozahedral bir kapsid içinde yer alır. Kapsidin dışında da üç farklı yüzey antijenini taşıyan lipid yapılı zarf yer alır(11). Bu yüzey antijenleri;

1. Küçük HBs antijeni; SHBsAg
2. Orta HBs antijeni; MHBsAg
3. Büyük HBs antijeni; LHBsAg'dir.

Virüsün kapsidi 27 nm çapındadır, hepatit B çekirdek antijeni (HBcAg), viral genom ve polimeraz enzimini içerir (10).

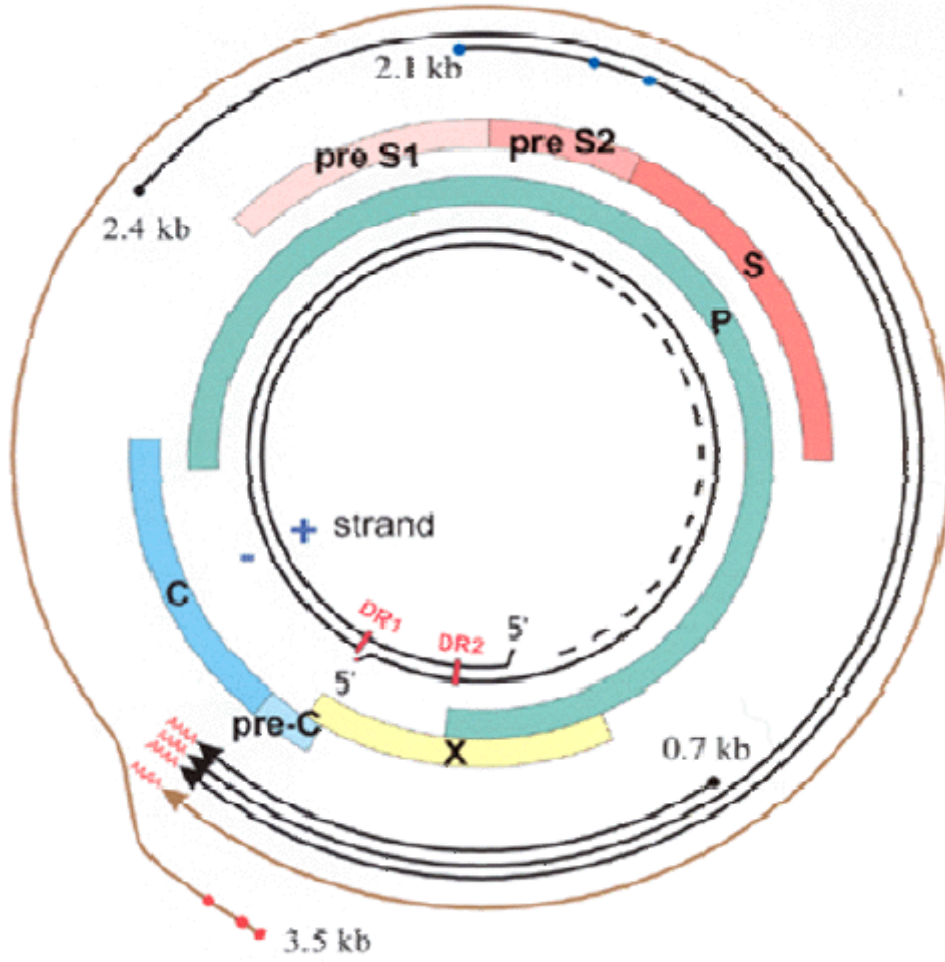


Şekil 2.1.2 HBV virionunun şematik yapısı (11)

HBV genomunda sirküler sarmalların hiçbiri kovalent olarak kapalı değildir. Genom 'birbiri içine geçen' genler içeren biçimde kendine özgü özellikte organize olmuştur. Komplet veya negatif iplikçikli DNA içinde dört açık okuma bölgesine (open reading frame = ORF) bölgesine sahiptir (12).

Genomdaki nükleotid dizilerinin yarısı, birden fazla mRNA sentezi için kullanılır. Ayrıca aynı ORF içerisinde birden fazla başlangıç kodonu bulunur. Bu şekilde birbiri ile ilişkili, birden fazla protein sentezi sağlanır (10). Genom içinde bu proteinleri kodlayan genler;

1. S geni; Büyük (LHBs; pre-S1 + pre-S2 + S), orta (MHBs; pre-S2 + S), küçük (SHBs; S) yüzey proteinlerini sentezler.
2. C geni; HBcAg (C) çekirdek proteini ve hepatit B 'e' antijeni (HBeAg) (pre-C + C) enfektivite proteini olmak üzere iki protein sentezler.
3. P geni; revers transkriptaz aktivitesine sahip DNA polimerazı kodlar
4. X geni; x proteinini sentezler.



Şekil 2.1.3. HBV genomik organizasyonu ve sentezlenen RNA'lar(11)

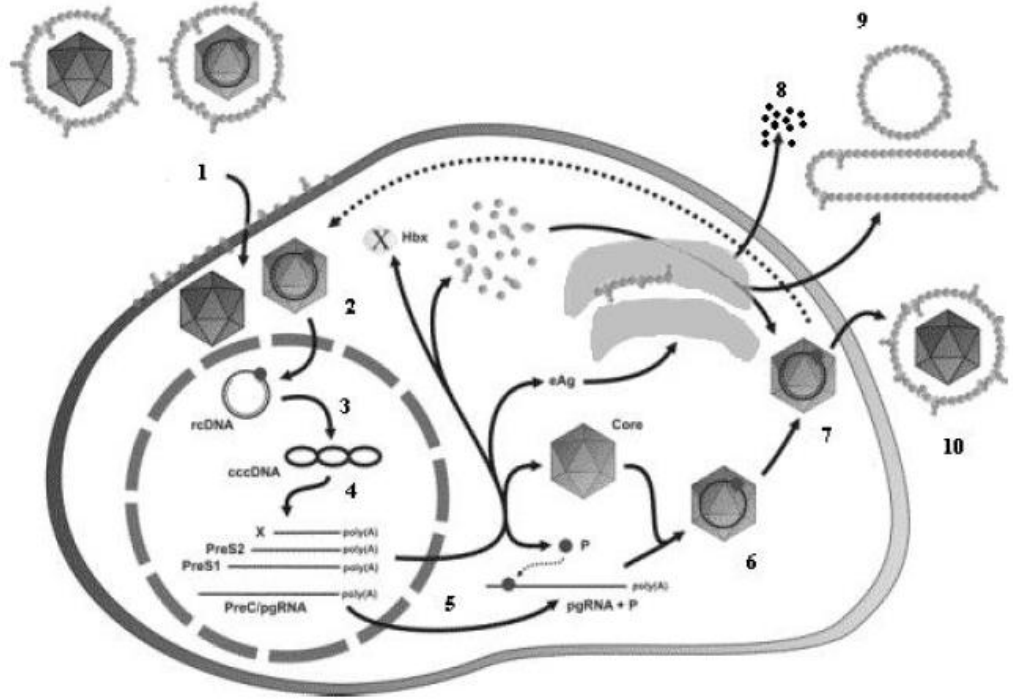
2.1.3. Viral Replikasyon

HBV'nin insan hepatositlerine tutunma ve giriş için kullandığı yüzey molekülleri henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. Göreceli olarak az miktarda bulunmasına karşın LHBsAg'nin aminoterminalinde bulunan ve viral alt tiplere göre 109 ya da 120 aminoasit büyüklüğünde izlenen pre-S1 bölgesinin hedef hücreye tutunmada en önemli görevi taşıyan epitoplara içerdiği saptanmıştır. Laboratuvarında hazırlanan çeşitli partiküllerin hepatositlere tutunma etkinliği açısından karşılaştırıldığında, virüsün hepatositlere tutunması ve hücreye girişinde birçok epitopun farklı düzeylerde rol oynadığı ve tüm yüzey antijeni taşıyan parçacıkların en yüksek aktiviteyi gösterdiği saptanmıştır(11). Virüs hepatositlere bağlandıktan sonra hücreye girer, zarfından ve HBsAg'den ayrılır. Kısmen çift sarmallı, gevşek sirküler DNA genomu, kovalent olarak kapalı sirküler DNA (cccDNA) kalıbına dönüşerek süper sarmallı forma dönüşür. Bu

form pregenomik RNA (pgRNA) ve mRNA transkripsiyonu için kalıp vazifesi görür. cccDNA karaciğerde enfeksiyonun ilk 24 saatinde tespit edilebilir ve sadece nükleusta birikir. Bu molekül HBV replikasyonunun başlangıcı için gereklidir. Transkribe edilip enfekte hücrenin sitoplazmasına yerleşen pgRNA; HBcAg ve reverse transkriptaz enzimi (polimeraz) için kalıp görevi görür. Polimeraz enzimi pgRNA'yı yeni dairesel DNA molekülüne çevirir. Enfeksiyonun erken döneminde; cccDNA havuzu oluşturmak için, sentez edilen genomlardan bazıları sitoplazmadan nükleusa geçer (12,13). HBV'nin mRNA sentezini yöneten dört promoter bölgesi vardır; PreC/C, PreS1, S ve X promoter bölgeleri (10). Genomik DNA'dan transkripsiyon sonucu her biri farklı uzunlukta dört adet mRNA sentezlenir ve transkriptler sitoplazmaya geçer (11). Bunlar;

1. 3,5 kb'lık en büyük mRNA (pgRNA); Genomik DNA sentezinde kalıp görevi görür. PreC/C ve polimeraz proteinlerinin ekspresyonundan sorumludur.
2. 2,4 kb'lık mRNA; pre-S1, pre-S2 ve HBsAg'yi kodlar.
3. 2,1 kb'lık mRNA; sadece pre-S2 ve S proteinlerini kodlar.
4. 0,7 kb'lık mRNA; X proteinini kodlar.

Oluşan bu transkriptler, sitoplazmada translasyon işlemi ile viral pregenom ürünlerini (HBsAg, HBcAg, HBeAg, polimeraz ve HBxAg) sentezletirler. Bu sırada 3,5 kb'lık mRNA'ların bir kısmı selektif olarak P gen ürünleri ile birlikte, yeni sentezlenen kor partikülleri içine yerleşir. Kor partikülleri içinde viral polimeraz enziminin revers transkriptaz aktivitesi ile pgRNA'dan viral DNA (-) iplikçığı sentezlenir. Bu sentezlenme sırasında eş zamanlı olarak enzimin ribonükleaz H (RNazH) aktivitesi ile pgRNA yıkılır. Polimeraz aktivitesi ile (-) iplikçikten (+) iplikçik sentezlenerek viral genom oluşturulur. Kor kısmı kılıf proteinleri tarafından çevrilir. Polimeraz tükenir, bu nedenle kısa zincirin sentezi tamamlanamaz. Bu sarmal eksik kalır. Her üç zarf proteinini içeren virionlar, endoplazmik retikulumdan golgi kompleksine taşınır. Burada zarf proteinlerinin glikozilasyonu tamamlanır ve olgun virion kan dolaşımına salınır (11, 14).



1. Tutunma, adsorpsiyon ve penetrasyon
2. Özyapımın (core) çekirdeğe taşınması
3. cccDNA'nın oluşması
4. Transkripsiyon / viral RNA'ların sentezi
5. Translasyon / viral proteinlerin sentezi
6. Pre-genomik RNA ve viral polimerazın enkapsidasyonu
7. Revers transkripsiyon ile DNA sentezi
8. HBe antijeni salınımı
9. Sferik ve filamentöz partiküllerin salınımı
10. Olgun, infeksiyöz virionun (Dane partikülü) salınımı

Şekil 2.1.4. HBV replikasyonunun şematik gösterimi (11)

2.1.4. HBV genotipleri

HBV genotipleri; tüm genom dizisinde %8'i; S geninde ise %4'ü aşan farklılık taşıyan varyantlar olarak tanımlanır (11). Buna göre HBV genomu A'dan J'ye 10 ana genotip oluşturmaktadır. Daha önce sekiz genotip bilinmekteyken son zamanlarda Vietnam ve Laos'ta genotip I, Japonya'da da genotip J bulunmuştur (15,16).

HBV subtipleri, HBsAg partiküllerinde HBsAg proteinlerinin S bölgesini oluşturan aminoasitlerin belli bölgelerde farklı diziliş göstermeleri ile temel alınarak yapılan bir sınıflama ortaya çıkar. HBsAg'nin tüm HBV kökenlerinde ortak olan 'a' determinantından başka iki determinanı daha tanımlanmıştır. Biri 122. aminoasitte olup 'd' (lizin) veya 'y' (arjinin) özgüllüğünde, diğeri ise 160.

aminoasitte ve 'w' (lizin) veya 'r' (arjinin) özgülüğündedir. Bu üç determinantın kombinasyonları ile dört ana subtip oluşur; adw, ayw, adr, ayr. 'w' determinantının 127.pozisyonundaki aminoaside göre dört ayrı tipinin bulunmasıyla subtipler sekize, 'q' determinantının saptanmasıyla da dokuza ulaşmıştır. Bunlar; ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+, adrq-subtipleridir(10).

Ülkemizde dominant olan genotip D ve subtip ayw olmakla birlikte bir çalışmada inaktif HBsAg taşıyıcı bir olguda genotip A2 subtip adw2saptanmıştır (15).

Grup spesifik determinant "a" tüm HBsAg subtiplerinde bulunur. Serumdaki antikor bağlayan aktivitenin %80'i bu bölgede olup virionun dış yüzünde bulunan "a" determinantına karşı gelişen antikorlar HBV'nin hepatositlere bağlanmasını engeller ve tüm subtiplere karşı etkili bir bağışıklık sağlar. "a" determinantı aşı veya doğal enfeksiyon sonrası oluşan anti - HBs'lerin büyük kısmını bağlama özelliğine sahiptir. Farklı ya da benzer subtiplerle oluşan reenfeksiyonlardan korunmanın "a" determinantına karşı gelişen cevap ile olduğu düşünülmektedir (17).

2.1.5 HBV Mutasyonları

Hepatit B virüsü enfeksiyonu, Human Immundeficiency Virus (HIV) ve HCV enfeksiyonu gibi yüksek düzeyde virion üretimi ve yıkımı ile karakterize bir enfeksiyondur. Kısmen çift sarmallı bir DNA virüsü olan HBV, yaşam siklusu sırasında pgRNA'dan revers transkripsiyonla DNA'ya dönüşür. Her ne kadar hızlı replikasyon yeteneğine sahip bir virüs olarak bilinse de; revers transkriptaz enziminin ilk okuma yeteneğindeki zayıflık nedeni ile bu aşamada nükleotid yerleşiminde yanlışlıklar meydana gelmekte ve sonuçta genom yapısında moleküler düzeyde küçük mutasyonel değişimler ortaya çıkmaktadır(18). Herhangi bir gen bölgesinde oluşan mutasyon diğer genlerin oluşturdukları ürünleri de etkilemektedir. Örneğin, P - ORF' deki mutasyonlar daha çok ilaçlara olan direncin ortaya çıkışına neden olurken S - ORF ürünlerinin antijenik yapısını da etkilemektedir (19). Enfekte bireylerde her yıl HBV'nin tek bir lokusunda $1,4-3.2 \times 10^{-5}$ mutasyon olabileceği hesaplanmıştır(10, 18). Aktif bağışık yanıt varlığına rağmen, virüste meydana gelen genetik değişiklikler mutant suşun hayatiyetini devam ettirmesine olanak sağlamakta, bu durum tanıda karışıklıklara, aşı

çalışmalarında ise başarısızlıklara yol açmaktadır. Bu nedenlerle HBV mutantlarının önemi her geçen gün biraz daha artmaktadır (18). Bu mutasyonlar;

- a) Tek bir taban bazınının değişimi (nokta mutasyonu)
- b) Bir veya daha fazla sayıda nükleotidin silinmesi
- c) Aynı sekansın düz veya ters biçimde tekrar edilmesi
- d) Nükleotid sekanslarının yeniden düzenlenmesi gibi farklı genetik

mekanizmalarla oluşabilir (20).

P Geni Mutasyonları

P geni, diğer üç gen (S, C, X) ile ortak bölgeleri olmasının yanı sıra genomun %80'ini kapsamaktadır. Bu genin sentezlediği polimeraz proteini pgRNA'dan sentezlenir. Polimeraz proteininde, terminal protein, spacer bölge, rt-DNA polimeraz, RNazH bölümleri mevcuttur. C bölgesinde YMDD motifi bulunur ki bu motif, nükleotid bağlayan katalitik bölgedir. Nükleozid/nükleotid analoglarının hedef bölgesi rt - DNA polimerazdır ve bu ilaçların kullanımı sonrasında P geni mutasyonları oluşmuştur(21).

Yüzey Mutantları

HBsAg'yi kodlayan S genine ait mutasyonlar HBsAg'nin immünojenitesini değiştirebilir. Bu durum iki önemli probleme sebep olabilir.

1. HBsAg negatif HBV enfeksiyonu

2. Aşının ve HBIG'nin (Hepatit B immün globülin) korunmasından kaçan HBV enfeksiyonları (HBsAg'nin majör hidrofilitik bölgesindeki 123, 124, 126, 129, 133, 142, 144, 145 kodon mutasyonları)

Mevcut HBV enfeksiyonun göstergesi olan HBsAg'nin tespitinde kullanılan ticari kitler, anti HBs-HBsAg bağlanması esasına dayanır. Mutasyonlar sonucu HBsAg'nin antijenik yapısındaki değişimler ile ticari kitler tarafından tespit edilemeyen HBsAg molekülleri meydana gelebilir. Böyle durumlarda HBV ile enfekte kişilerde HBsAg negatif saptanabilir (22).

Pre-kor/kor bölgesi mutasyonları

HBeAg, virüsün replikasyonunun bir göstergesi olmasına rağmen, bazı

replikatif enfeksiyonlarda HBeAg negatif saptanmaktadır. Bunun 2 sebebi olabilir:

1. Pre-kor stop kodonu mutasyonu (28. Kodonda TGG—TAG)
2. Kor promoter bölgesi mutasyonu (T1774A ve T1776G)

Kor geninin bir stop kodonu ve iki adet başlatma kodonu vardır. Translasyon ilk başlatma kodonundan başlarsa, oluşan polipeptit hücre içinde bazı değişimlerden geçerek HBeAg'yi oluşturur. İkinci kodondan başlar ise kor proteinini (HBcAg) yani nükleokapsidi oluşturan protein meydana gelir. Antivirallerle tedavi bakımından Pre-kor mutantlar bir farklılık yaratmamaktadır (20).

X Mutantları

X gen bölgesi virüsün replikasyon ve ekspresyonu için önemlidir. HBxAg regülâtör bir protein olup, HBV genleri yanı sıra farklı hücresel gen promoterlerini aktive edebilir. X geni mutasyonlarının fonksiyonel önemi tam olarak açığa kavuşmamakla beraber bu tip varyantların enfeksiyöziteleri zayıf, replikasyon seviyeleri düşüktür (23).

2.2. HEPATİT B VİRÜSÜNÜN EPİDEMİYOLOJİSİ

2.2.1. Hepatit B virüs enfeksiyonunun prevalansı

Dünyada yaklaşık iki milyar insanın hepatit B virüsü ile karşılaşmış olduğu, 500 milyondan daha fazla sayıda kronik HBV enfeksiyonu olgusu olduğu ve her yıl 1 milyon kişinin HBV ile ilişkili hastalıklar sonucu yaşamını kaybettiği tahmin edilmektedir (24). HBV' ne bağlı hastalıklar Asya, Afrika ve Pasifik kıyılarında en önemli üç ölüm nedeninden biridir(25).

HBV enfeksiyonunun dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılık gösterir. Dünya HBV enfeksiyonu prevalansı açısından; düşük(<%2), orta (% 2 – 8)ve yüksek (>% 8) endemisite bölgelerine ayrılmıştır. Sınıflandırmada; bölgedeki HBsAg ve anti – HBs pozitifliği oranları, enfeksiyonun alınma yaşı ve virüsün en sık hangi yolla bulaştığı dikkate alınmıştır (25). Viral hepatit ile ilgili

yapılan çalışmalar sonucunda; Türkiye'nin hepatit b açısından orta derecede endemik bir bölgede olduğu görülmektedir (10,26). Dünya genelinde HBsAg pozitifliği %0,1 – 20 arasındadır (25). Ülkemizde son on yıl içinde toplumun değişik kesimlerindeki kişileri kapsayan çalışmalarda HBsAg pozitifliği % 0,7 ile %12,9 arasında değişen oranlarda (ortalama %5.01) , anti – HBs pozitifliği %6,3 ile %48 arasında (ortalama %23,2) bildirilmiştir. HBsAg pozitifliğinin Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yaşayan ve yine bu bölgelerden g alan batı bölgesinde yer alan illerde daha yüksek olduğu gözlenmektedir(15,27).

2.2.2.Hepatit B virüsünün bulaş yolları

HBsAg ve HBV-DNA serum, idrar, ter, gözyaşı, semen, tükürük, feçes, beyin, omurilik sıvısı, vajinal salgılar gibi birçok vücut salgısında saptanmıştır. Salgılardaki viral yük yoğunluğu değişkendir. En fazla serumda, sonra semen ve tükürükte bulunmaktadı. Bu nedenle semen ve tükürüğün bulaşta önemli bir aracı oldukları kabul edilirken diğer salgıların bu açıdan çok önemli olmadıkları dşnlmektedir(25).

HBV enfeksiyonunun dört ana bulaş yolu vardır;

1. Perkütan bulaş: Enfekte kan ve vücut sıvıları ile mukozal ya da kutanöz temas sonucu oluşan bulaşma şekli olup en önemli bulaşma yollarından biridir. oğul transfüzyon yapılan hastalar, hemodiyaliz hastaları, damar içi uyuşturucu bağımlıları, dövme yaptırınlar, özellikle cerrahlar, patologlar, hemodiyaliz çalışanları olmak üzere sağlık çalışanları perkütan bulaşma için yüksek risk taşıyan gruplardır. Virüs insan vücudu dışında yedi günden uzun süre canlı kalabilir. Bu nedenle, kanla bulaşmış dış fırçası, havlu, jilet, tıraş makinesi, banyo malzemeleri gibi günlük eşyaların ortak kullanımı da bulaş kaynağı olabilmektedir (25).

2. Cinsel temas: En çok risk taşıyanlar homoseksellerdir. Genital sekresyonlarda düşük miktarda virüs bulunmasına rağmen heteroseksüel temas ile de bulaş mümkündür. Semen ve tükürükteki viral yük aynı kişinin serumundakinden daha azdır(28). Ancak semen ve tükürüğün bulaşta önemli

bir aracı oldukları kabul edilir. Çünkü semen ve tükürükte sürekli enfeksiyöz virion bulunur. Eşleri HBV ile kronik enfekte olanlar, cinsel yolla bulaşan başka bir hastalığı olanlar, çok eşliler de risk altındadır (25).

3. Perinatal-vertikal bulaşma: Enfekte anneden yenidoğana bulaşma şeklidir.

Bulaşma; gebelik sırasında, doğum esnasında veya doğum sonrası olabilir. Taşıyıcı bir annenin perinatal dönemde (3.trimester-doğum sonrası ilk 2 ay) enfeksiyonu bebeğine geçirme ihtimali yüksek (%40-50), intrauterin bulaşma oranı ise daha düşüktür (%5-15). Eğer annede HBeAg pozitifliği söz konusu ise bu oran %70-90'a ulaşır. Bunlarda enfeksiyon %90 kronikleşir (29-31).

4. Horizontal bulaşma: Enfekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas sonucu oluşabilen bulaşma şeklidir. Mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Düşük sosyoekonomik düzey, kötü hijyen, kalabalık yaşam şartları HBV bulaşını artırmaktadır (10). HBV'nin hepatositler yanında periferik kanda mononükleer hücrelerde de replike olabilmesi nedeniyle az miktardaki enfekte kanın, cinsellik içermeyen yakın temastaki bireylerin hasarlı derisiyle temasının horizontal bulaşmaya yol açabileceği düşünülmektedir. Tükürük gibi vücut sıvıları da hasarlı deriye temas ederse bulaşma olabilir (14).

2.3. HEPATİT B VİRUS ENFEKSİYONU

Kronik HBV enfeksiyonu dinamik bir süreçtir. Kronik HBV enfeksiyonunun doğal gelişim aşamaları, şematik olarak, birbirini izlemek zorunda olmayan beş döneme ayrılabilir (32,33).

1. 'İmmun toleran' dönem; HBeAg pozitifliği, yüksek düzeyde HBV replikasyonu (yüksek serum HBV - DNA düzeyi ile anlaşılır), aminotransferazların düzeylerinin normal ya da düşük düzeyde olması, karaciğerde hafif nekroenflamasyon olması ya da hiç olmaması ve fibrozisin yavaş ilerlemesi ya da hiç olmaması ile karakterizedir.
2. 'İmmun reaktif HBeAg-pozitif' dönem: HBeAg pozitifliği, immün toleran dönem ile kıyaslandığında nispeten daha düşük replikasyon düzeyi (daha düşük serum HBV - DNA düzeyleri ile anlaşılır), aminotransferazların düzeyinde artış ya da dalgalı seyir, orta ya da şiddetli derecede karaciğer

nekroinflamasyonu ve önceki döneme nazaran fibroziste daha hızlı ilerleme ile karakterizedir.

3. 'İnaktif HBV taşıyıcı' dönemi; anti-HBe serokonversiyonu sonrası gelişebilir. Bu dönemin özellikleri serum HBV - DNA'sının çok düşük ya da saptanamayacak düzeyde olması ve serum transaminazlarının normal olmasıdır. Bir hastayı inaktif HBV taşıyıcısı olarak sınıflandırmadan önce alanin aminotransferaz (ALT) ve serum HBV - DNA düzeylerinin en azından her 3-4 ayda bir olmak üzere minimum 1 yıl süreyle takibi gereklidir.
4. 'HBeAg-negatif KHB'; immun reaktif dönem sırasında HBeAg'den anti-HBe antikörlere serokonversiyonu takiben oluşabilir ya da inaktif taşıyıcı durumdan yıllar veya on-yıllar sonra gelişebilir. Kronik HBV enfeksiyonunun doğal seyirinde, daha sonraki bir immun reaktif dönemi temsil eder. Dalgalanma gösteren HBV - DNA ve aminotransferaz düzeyleri ve aktif hepatit modelinin görüldüğü, belli aralıklarla tekrarlayan reaktivasyon ile karakterizedir. Bu hastalarda HBeAg-negatif olup, prekör ve/veya bazal kor promoter bölgelerinde nükleotid değişimi nedeniyle düşük düzeyde HBeAg dışı vuran ya da hiç HBeAg açığa vurmeyen HBV virionları sayıca baskındır(34).
5. 'HBsAg-negatif dönemde' ; HBsAg kaybından sonra, karaciğerde saptanabilir HBV - DNA eşliğinde düşük düzeyde HBV replikasyonu devam edebilir. Genellikle- anti-HBs mevcut olsun ya da olmasın, serumda anti-HBc antikörları saptanabilir iken, HBV - DNA saptanamaz.

Bu dönemlerin gelişmesi genetik özellikler, diğer virüsler ile enfeksiyonlar, immunsupresyon, cinsiyet ve HBV mutantları gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmekte, farklı klinik tablolar oluşturabilmektedir. Tamamen fark edilmeden seyreden vakalar yanında ikterli veya iktersiz fakat semptomlarla giden hastalar da olabilir(35). Hastalarda görülen klinik tabloda; akut düzelen hepatitten karaciğer yetmezliği ve ensefalopatinin eşlik ettiği fulminan hepatite, inaktif taşıyıcılıktan karaciğer sirozu, hepatosellüler karsinomaya kadar farklılıklar görülebilir(10).

Akut HBV enfeksiyonunun inkübasyon zamanı 1 – 6 ay arasında değişmektedir. İnkübasyon zamanı bulaş yoluna ve temas sonrası profilaksi kullanımına bağlı olarak kısalıp uzayabilir. Akut HBV enfeksiyonunun klinik bulguları yüksek oranda yaşa bağlı olmakla birlikte virüsün genetik yapısına, eşlik eden başka hepatotrop virüs enfeksiyonu varlığına ve konakçının immun durumuna da bağlıdır. Enfekte yenidoğanların hemen tamamı asemptomatik olup 1 – 5 yaş arası çocukların yalnızca %5 – 10'unda klinik bulgu vardır. Daha ileriki yaştaki çocuk ve erişkinlerin yaklaşık %10 – 30'u semptomatik hale gelir (12,36,37).

Subklinik akut hepatit B olgularının kronikleşme oranının semptomatik olgulara göre daha yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (38). Akut hepatit B enfeksiyonunun erişkinde kronikleşme oranı %5 – 10 iken, çocuklarda %90'ı geçmektedir (39-41). Hastaların %0,1 – 0,5'inde fulminan hepatit gelişebilir. Özellikle prekor ve kor promoter mutasyonlarına sahip virüslerle olan enfeksiyonlarda fulminan seyir olabileceği rapor edilirken son yıllarda preS/S mutasyonlarına sahip virüslerle olan enfeksiyonlarda da fulminan hepatit gelişebileceği rapor edilmiştir (10,37,42).

Eşlik eden hepatit D virüsü (HDV) veya HCV enfeksiyonu varlığında akut HBV enfeksiyonlarının daha fazla semptomatik olabildiği, kronik böbrek yetmezliği, immünsupresif ilaç kullanımı, kanser kemoterapi alması gibi immünsupresif durumlarda daha yüksek oranda kronikleşebileceği bildirilmektedir(40,41).

Primer enfeksiyonda HBsAg inkübasyon periyodu sonrası kanda belirmeye başlar ve bunu kısa bir süre sonra hepatit B kor antijenine karşı antikorların (anti – Hbc) kanda görülmesi izler. Çoğu vakada serumda HBeAg saptanır. Sitolitik olmayan klerens mekanizmalarının gücü ile bağlantılı olarak masif hepatic destrüksiyon olmaksızın, bütün hepatositlerden enfeksiyon temizlenebilir. Dolaşımda HBsAg ve HBeAg kaybolur ve anti – HBs antikorları serumda saptanmaya başlar. Kendi kendine sınırlanmış bir enfeksiyon

kliniğinde viral antijen kaybından sonra ve anti – HBs antikorlarının görülmesinden sonra dahi kanda düşük düzeyde HBV – DNA yıllar boyu saptanabilir. Ancak yapılan hayvan çalışmalarında bu serumun inokülasyonu ile enfeksiyonunun oluşmadığı görülmüştür(43).

HBsAg'nin serumda ilk saptanmasından itibaren altı aydan uzun süre tespit edilmesi taşıyıcılığı gösterir (39,41,44). Serum transaminaz değerleri normal olan, karaciğer hastalığının diğer belirtileri de olmayan, HBsAg pozitif kişiler için “sağlıklı taşıyıcı” terimi kullanılmaktadır. National Institutes of Health (NIH)'in 2000 yılında yaptığı uzlaşma toplantısında HBV enfeksiyonu için kullanılan klinik terimler yeniden gözden geçirilmiş ve “asemptomatik HBsAg taşıyıcılığı” veya “sağlıklı HBsAg taşıyıcılığı” terminolojisi yerine “inaktif HBsAg taşıyıcılığı” ifadesinin kullanılmasına karar verilmiştir (41). Taşıyıcılarda genellikle anti-HBc pozitifdir. Taşıyıcıların %70'i kronik persistan hepatit (KPH) olarak kalırken,%30'unda kronik aktif hepatit (KAH) gelişir. Kronik persistan hepatit olarak tanımlanan hastalar genellikle sağlıklıdırlar ve sarılık olmaksızın kalıcı veya tekrarlayan AST ve ALT yükselmeleri gösterirler. Kronik aktif hepatitte ise prognoz değişkenlik gösterir ve birçok hastada (%15-20) beş yıl içerisinde siroza ilerleme, sirozlu hastaların %20'sinde ise hepatosellüler karsinom (HSK) saptanır (43). Hepatit B virüsü taşıyıcılarında hepatosellüler karsinom gelişme riskinin enfekte olmayan kişilere göre 100 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (45).

Hepatit B virüs enfeksiyonlu hastalarda HBeAg'nin pozitif, anti-HBe'nin negatif olması viral replikasyonun olduğunu; HBeAg negatif, anti-HBe'nin pozitif olması replikasyonun sona erdiğini gösterir. Fakat bazen anti-HBe pozitifken HBV - DNA'nın da pozitif olması, mutant bir enfeksiyonun varlığını gösterir. Bu nedenle serumda viral DNA'nın saptanması, enfeksiyöz virion varlığının en kuvvetli kanıtı olmaktadır (33).

2.3.1. Hepatit B Enfeksiyonunun Tanısı

2.3.1.1. Serolojik Tanı: Hepatit B virüsü ile enfeksiyon oluştuğunda organizmada virüse ait çeşitli antijenlere (HBsAg, HBcAg ve HBeAg) karşı antikorlar meydana gelmektedir. Hepatit B virüsü enfeksiyonlarının özgül tanısını yapmak amacıyla hasta serumunda bu antijenlerin ve antikorların varlığı araştırılmaktadır. Bunların saptanması için günümüzde duyarlılığı, özgüllüğü ve verimliliği yüksek serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Virüse ait antijenler (HBsAg ve HBeAg) ile antijenlere karşı gelişen antikorlar (anti-HBc IgM, total anti-HBc veya anti-HBc IgG, total anti-HBs ve anti-HBe IgG) ticari olarak bulunan birçok ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assays) kiti aracılığıyla saptanabilir. Viral HBcAg dolaşıma katılmadığı ve sadece hepatositler içinde bulunduğu için serolojik olarak saptanamamaktadır. Bu testler; akut ve kronik enfeksiyon ayrımının yapılmasında, enfektivitenin değerlendirilmesinde, bağışıklık durumunun tayininde, kan ve organ vericilerinin taranmasında rutin olarak kullanılmaktadır (10,46). Hastanın serolojik test sonuçlarına göre yorum yapmak bazen çok kolay olabilmekte, ancak zaman zaman beklenmeyen sonuçlarla karşılaşılabilir. Bu nedenle yorumlamayı çok dikkatli yapmak gerekmektedir. Duruma göre testler tekrarlanmalı ve gerek duyulduğunda moleküler tanı yöntemlerinden de yararlanılmalıdır (46).

Yüzey proteinlerinde değişikliğe neden olan mutant HBV enfeksiyonlarında, bazı test kitleri ile HBsAg negatif bulunabilir. Bu nedenle son yıllarda HBsAg kitlerinde değişiklik yapılmış ve farklı rekombinant monoklonal antikorlarda katılarak 'tanısal kaçak HBV mutantları'nın saptanması hedeflenmiştir(10). Tanısal kaçak HBV mutantları düşündürecek HBV seroloji örnekleri şunlardır;

- Salt anti – HBc pozitifliği
- Farklı test kitlerinde HBsAg sonuçlarında uyumsuzluk
- HBeAg pozitif ancak HBsAg negatif olgular
- Anti – HBc ve anti – HBs ile beraber HBV DNA pozitif olgular
- HBsAg ve anti – HBs (genellikle düşük titrelerde) pozitif olgular

- Zayıf pozitif ancak nötralizasyon testi ile doğrulanmayan HBsAg sonuçları

Son yıllarda özellikle kronik hepatit B'nin doğal seyri için fazlalarının ayrılmasında önemli katkılarda bulunan ve hastalığın iyileşme fazına ilerleyip ilerlememesi öngörüsünde HBsAg kuantifikasyonundan (qHBsAg) bahsedilmektedir. Serum HBsAg seviyeleri intrahepatik cccDNA seviyeleri ile koreledir. Yani kantitasyon enfekte hücreleri yansıtır. Kronik hepatit B tedavisinde HBV - DNA'ya değerli ilave bilgiler verebilir. qHBsAg düşük HBV DNA'lı HBeAg negatif hastalar ile inaktif taşıyıcıları ayırmada yardımcı olur(47,48).

2.3.1.2. Direkt Tanı Yöntemleri

2.3.1.2.1. Hücre Kültürü: Hepatit B virüsü, erişkin ve fetal hepatosit kültürlerinde üretilmektedir. Rutin kullanım için uygun bir yöntem değildir, daha çok viral patogenezi ve anti viral ilaç araştırılması amacıyla kullanılmaktadır(13,44).

2.3.1.2.2 Viral Antijenlerin Gösterilmesi: Doku örneklerinde immünoperoksidaz ve immüno Floresan boyalarla HBV antijenleri gösterilebilir. Hepatosit içinde HBsAg sitoplazmada, HBcAg ise genellikle çekirdekte saptanır. Rutinde kullanımı zor olan, daha çok araştırma amacıyla kullanılan yöntemlerdir (10).

2.3.1.2.3 Moleküler Tanı Yöntemleri:

Hepatit B virüsü DNA'sının kanda saptanması, aktif HBV replikasyonunun güvenilir bir göstergesi olup, enfeksiyonun tanısında, evrelendirilmesinde, tedaviye karar vermede ve tedavi başarısının izlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hepatit B virüsü DNA'sının saptanması ve kantitasyonu amacıyla farklı yöntemler geliştirilmiştir. Testler iki grupta toplanır;

1. Hibridizasyon temelli testler: Viral DNA, işaretli prob yardımıyla saptanır. Probdan elde edilen sinyal çoğaltılarak ölçülür. Dinamik aralıkları geniş,

duyarlılıkları 10^{3-5} kopya/ml civarındadır(49). Hibridizasyon ve sinyal amplifikasyon yöntemlerini beraber kullanan dallı DNA (branched DNA) temeline dayanan yöntem ile duyarlılığın biraz daha artırılması başarılmıştır (10,49).

2. Nükleik asit amplifikasyon temelli testler: Viral DNA'nın çoğaltılarak saptanması esasına dayanır. Nükleik asidin çoğaltılması amacıyla termal döngülü temelli amplifikasyon(PZR, LZR) veya izotermal temelli amplifikasyon (TMA, NASBA, LAMP, RCA) gibi yöntemler kullanılabilir (10,49).

Test seçiminde belirleyici olan, gereksinim duyulan duyarlılık sınırı ve kantitasyon aralığıdır. Hibridizasyon esaslı testlerin duyarlılıklarının düşük olması, yüksek duyarlılık istenen durumlarda (HBsAg negatif HBV enfeksiyonunun tanısı, tedavi izlemi, vb.) kullanımlarını kısıtlamaktadır. Serumdaki 10 kopya/ml miktarındaki HBV - DNA'yı saptayabilen PZR gibi testler; aşırı duyarlı olması nedeniyle düşük düzey HBV enfeksiyonunun tanısında ve erken tanıda yararlı olmaktadır (49). Bu yöntemlerle önceleri örnekte viral genomun varlığı kalitatif yönden araştırılmakta iken, geliştirilen tekniklerle kantitatif olarak genomun örnekteki miktarı da saptanmaya başlanmıştır. Moleküler tanı konusundaki en önemli gelişme HBV - DNA testlerinin duyarlılığını artıran gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real time PCR) tekniğinin ortaya çıkması ve gelişmesidir. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu, ışığa özelliğine sahip moleküller kullanarak, PZR oluşurken izleme ve miktar belirleme (kantitasyon) yöntemidir (49,50). Bu yöntem ile sonuçlar kantitatif olarak daha kısa zamanda verilmekte ve farklı HBV genotiplerini saptamak mümkün olmaktadır.

HBV – DNA testlerinde farklı kitlelerle saptanan DNA miktarlarının karşılaştırılabilmesi için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından uluslararası bir standart geliştirilmiştir(10). Sonuçlar mililitrede 'international unit' (IU) olarak bildirilir. Bir IU; 5,4 genom eşdeğeri yani kopya demektir. Her ne kadar standardizasyon geliştirilmiş olsa da kullanılan moleküler yöntemin çeşidine ve üreticisine göre farklılıklar görülebilir (51).

2.4. Gizli Hepatit B Virüs Enfeksiyonu

2.4.1. Gizli HBV Enfeksiyonu Tanımı

Son yıllarda HBV'nin sorumlu olduğu hastalıklara gizli HBV enfeksiyonu da dahil edilmiştir. Akut HBV enfeksiyonu sonrası hastalığın devam ettiği bireyler üç farklı seyir gözlenebilir.

- a – Kronik HBV enfeksiyonu
- b – İnaktif taşıyıcı
- c – Gizli HBV enfeksiyonu

İlk olarak Hoofnagle ve arkadaşları 1978 yılında HBsAg ve anti - HBs düzeyi negatif, anti - HBc IgG pozitif kan transfüzyonu sonrasında HBV enfeksiyonu geliştiğini bildirmişlerdir. Sonradan yapılan çalışmalarda izole anti - HBc IgG pozitif olan hastaların çoğunluğunda HBV DNA pozitifliği saptanması, yeni bir durumu ve bu tip hastaların HBV enfeksiyonunu bulaştırma riskinin olduğunu ortaya koymuştur(52).

Gizli HBV enfeksiyonu; HBV enfeksiyonu sonrası spontan veya tedavi ile HBsAg'si negatifleşen hastalarda hassas moleküler teknikler ile serum ve / veya karaciğer dokusunda HBV – DNA'nın saptanması durumudur. Bu durumun kriptojenik hepatit ve hepatosellüler karsinom olgularında daha sık gözleendiği ayrıca HCV veya HIV ile enfeksiyon, hemodiyaliz ve transplantasyon uygulanması, damar içi ilaç bağımlılığı gibi faktörlerinde etkili olabileceği ifade edilmiştir (53).

Gizli HBV enfeksiyonu anti – HBc ve anti – HBs pozitifliğine göre iki gruba ayrılmaktadır(54).

- a – Seropozitif gizli HBV enfeksiyonu; anti – HBc ve/veya anti – HBs pozitifliği
- b – Seronegatif gizli HBV enfeksiyonu; anti – HBc ve Anti – HBs negatifliği

Periferik kan mononükleer hücreleri gibi karaciğer dışındaki bazı hücrelerde düşük düzey HBV replikasyonu olabileceğinin saptanması gizli HBV

enfeksiyonunda izlenen viral nükleik asitlerin kaynağının karaciğer dışı dokular olabileceği düşüncesini doğurmuştur (4) .

Serumdaki HBV – DNA varlığının dönemsel ve geçici olabileceğini gösteren veriler bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada takip edilen 40 olgunun 27'sinde HBV – DNA pozitifliği değişmezken 7 pozitif olgunun negatifleştiği ve 6 negatif olgunun da takip süresince pozitifleştiği saptanmıştır (4).

2.4.2. Gizli HBV Enfeksiyonu Oluşumunda Olası Mekanizmalar

Gizli HBV enfeksiyonunun oluşmasında rol oynayan moleküler ve immünolojik mekanizmalar tam olarak açıklanamamış olmasına rağmen son on yılda ilerleme kaydedilmiştir. Enfeksiyonun seyri ve viral replikasyon dinamikleri göz önüne alındığında gizli HBV enfeksiyonunda konağa ve virüse ait birçok faktörün etkili olduğu düşünülmektedir (4,55).

Gizli HBV enfeksiyonu olan hastalarda karaciğer dokusu içindeki HBV-DNA miktarı seruma göre daha yüksektir. Buda bize karaciğerin gizli HBV enfeksiyonunda HBV replikasyonu için önemli bir organ olduğunu gösterir. HBV replikasyonu bir revers transkripsiyon olayıdır. Konak hücre nükleusuna giren virüs DNA' sının iki ucu birleşerek çift zincirli sirküler bir DNA yapısı oluşur. Buna HBV – cccDNA ismi verilir. Bu DNA' dan pregenomik RNA sentezlenir. Pregenomik RNA' dan önce negatif DNA iplikçığı ve bundan da pozitif iplikçik sentezlenerek genom sentezi bitirilir. Yapılan çalışmalarda gizli HBV enfeksiyonu olan hastalarda karaciğer dokusunda HBV ccc-DNA ve HBV-RNA'nın tespit edilmiş olması aktif replikasyonun göstergesidir (56).

Gizli HBV enfeksiyonunun oluşumundan sorumlu tutulan mekanizmalar şunlardır.

1 – HBV genomunda mutasyonlar ve delesyonlar;

- a- Pre – S bölgesi mutasyonları; HBV genomunun pre-S/S (yüzey antijeni) bölgesinde oluşan mutasyonlar HBsAg'nin antijenitesini azaltarak immun saldırıdan korunmasına ve anti-HBs oluşumunun

azalmasına neden olur. Örneğin S bölgesindeki 124-147 numaralı aminoasitlerde meydana gelen mutasyon bu bölgenin B lenfositler için bir epitop teşkil etmesi nedeniyle anti-HBs üretiminde azalmaya ve sonuçta da gizli HBV enfeksiyonuna yol açabilir (57). Özellikle delesyonlar sonucu ticari olarak mevcut kitler ile HBsAg tespit edilememesine neden olmaktadır (55).

- b- 'a' determinantı mutasyonları; gizli hepatit B enfeksiyonu ile ilgili ilk tanımlanan mutasyonlardan biridir. İlk olarak Carman ve ark. tarafından tanımlanan HBsAg 'a' determinantında G145R mutantının monoklonal antikorlara bağlanma affinitesi azalmaktadır (22).
- c- Tedavi ilişkili mutasyonlar; Lamivudin tedavisi ile YMDD motifinde meydana gelen mutasyonlar hem P geninde hem de S geninde mutasyona neden olmaktadır. Özellikle P geninde meydana gelen mutasyonlar sonucu ticari olarak mevcut kitlerle HBsAg tespitinde kaçak oluşmaktadır (58).
- d- RNA splayları (eklemeleri); Hass ve ark. S geninde G458A mutasyonu ile S geninde mRNA'sında değişiklik meydana geldiğini göstermişlerdir. 458 pozisyonundaki nükleotidin 5' ucuna yakın olması nedeni ile mRNA değişir böylece HBsAg ekspresyonu azalır veya hiç salınmaz (55).

2 – HBV'nin konak hücre genomuna entegrasyonu; Gizli HBV enfeksiyonlu hastalarda hem genoma entegre hem de serbest episomal HBV-DNA molekülleri gösterilmiştir. Bu DNA moleküllerinin entegrasyon sırasında yeniden düzenlenmesi HBsAg salınımını değiştirerek; serumda HBsAg kaybına, virion üretiminin azalmasına, serumda tespit edilebilir HBV – DNA yokluğuna neden olabilir(59). Yapılan çalışmalarda gizli HBV enfeksiyonlu hastalarda ve özellikle beraberinde hepatosellüler karsinom bulunanlarda HBV - DNA entegrasyonunun sık olduğu gösterilmiştir (60).

3 – Periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMNH) HBV enfeksiyonu; Akut, gizli ve kronik HBV enfeksiyonu sırasında PKMNH'de HBV-DNA'nın sık bulunduğu gösterilmiştir. Daha ileri çalışmalar PKMNH'nin farklı subgruplarında da (monosit, T ve B hücre subtipleri) HBV – DNA saptandığını göstermiştir (56).

4 – İmmün kompleks oluşumu; Akut kendini sınırlayan hepatit B'nin iyileştiği ve anti-HBs'nin oluştuğu tespit edilen olgularla yapılan birkaç çalışmada, hepatit B iyileştikten sonra da kanda HBV partiküllerinin bulunduğu gösterilmiştir . Akut HBV enfeksiyonunun erken fazında, HBV hem serbest halde hem de immünglobulinlere (Ig) bağlı bulunur. Daha sonra HBsAg'nin anti- HBs'ye serokonversiyonu sonucu daha çok immünglobulinlere bağlı bulunur. İmmünkompleksler tarafından maskelenmesi, HBsAg'nin saptanamamasına neden olabilmektedir (55,56).

5- Konağın immün cevabı; Hepatit B virüsü enfeksiyonunun seyri, konağın immün cevabı ile viral replikasyon düzeyinin dengesine bağlıdır. Virüs eliminasyonunda hem hücresel hem de humoral faktörler rol oynar. Multispesifik yeterli bir T hücre cevabı, virüsü temizler. Fakat yetersiz cevap, virüsün kalıcı olmasına yol açar. Teorik olarak konak immün cevabın azalması, gizli HBV enfeksiyonu gelişmesine neden olabilmektedir (56). Karaciğer nakli sonrasında immün supresyon ile HBV enfeksiyonu nüksetmesi, buna bir örnektir.

6- HBV genotipi; HBV D genotipi kendine özgü, pre – S2/S promotörden ters yönde ilerleyen 33 nükleotidlik bir delesyona sahiptir. Bu delesyon gizli HBV enfeksiyonu olan D genotipli hastalarda HBsAg ekspresyonunu azaltmaktadır (55).

7- Ko – enfeksiyonlar; Birçok çalışmada HCV ile koenfekte bireylerde HBV replikasyonunun düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durumun nedenine yönelik olarak yapılan araştırmalarda;

- a) Aynı hepatosit içinde HBV ve HCV var olması halinde HCV'nin, HBV replikasyonunu baskıladığı(61),
- b) HCV kor proteininin HBV replikasyonu, gen ekspresyonu ve HBV enhancer aktivitesini baskıladığı(62),
- c) HCV NS2 proteininin de HBsAg ve HBeAg ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir(63).

HIV ve HBV bulaş yolları birbirine benzerdir. HIV (+) hastalar arasında gizli hepatit B enfeksiyonu prevalansı HBV – DNA tespitinde kullanılan yöntemle, o bölgenin HBV endemisitesine ve antiretroviral tedavi alıp almadığına bağlıdır. Ancak halen HIV (+) hastalarda gizli HBV enfeksiyonunun olası gelişim

mekanizmaları aydınlatılamamıştır(55).

8- Apolipoprotein B mRNA aracılı enzim katalitik polipeptit; APOBEC enziminin fizyolojik görevi sitidin deaminasyonudur. HBV replikasyonu olan hücrelerde APOBEC ekspresyonu ile HBV – DNA seviyelerinde 50 kat azalma olduğu gözlenmiştir(64).

2.4.3. Gizli HBV enfeksiyonu klinik önemi

Gizli HBV enfeksiyonunun toplum sağlığı açısından en önemli özelliği HBV'nin bulaşına neden olmasıdır. HBV'nin organ transplantasyonu ve kan transfüzyonu ile bulaşa neden olması, immüsupresyonlu kişilerde HBV enfeksiyonu reaktivasyonuna neden olması klinik önemini arttırmaktadır (52).

Gizli HBV enfeksiyonunda bulaştırıcılık diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi iki ana faktöre bağlıdır: enfeksiyöz doz ve konakçının immun sistemi. Kan ve kan ürünlerinin transfüzyon ile verildiği göz önüne alındığı zaman herhangi bir miktarda HBV – DNA'nın varlığı kişiyi enfekte edebilir (viral yük < 20 IU/ml olsa bile)(65).

Gizli HBV enfeksiyonu tüm dünyada görülen bir klinik durumdur. Dünya genelinde gizli HBV enfeksiyonu prevalansı % 1- 95 arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu prevalans oranları; coğrafik farklılık (endemisite), farklı hasta grupları (eşlik eden komorbidite ve ko-enfeksiyonlar) ve farklı duyarlılıklara sahip tanısal yöntemlerin uygulanmasından dolayı değişiklik göstermektedir (66,67).

Gizli Hepatit B enfeksiyonu görülme oranı Hepatit B risk faktörlerine bağımlı olarak özel gruplarda değişik sıklıkta bildirilmiştir (52).

Tablo 2.4.1. Özel Hasta Gruplarında Gizli HBV Enfeksiyonu Prevalansı(52)

KLİNİK GRUPLAR	GİZLİ HBV ENFEKSİYONU PREVALANSI (%)
Kan donörleri	0.05 – 13
HIV	0 – 89
HCV	6.7 – 91
HSK	12 – 80
İmmüsupresyon	3.3 – 37,8
Diyaliz	0 – 58
Kr. HBV taşıyıcıları	5 – 55
Kriptojenik siroz	4.8 – 40
Hemofili	5.3 – 51,2
HBsAg taşıyıcılı aile bireyleri	8.8 – 28,8
Sağlıklı popülasyon	0.7 – 34

Gizli HBV enfeksiyonu sağlıklı (inaktif) HBV taşıyıcılarında dört farklı klinik tablo ile karşımıza çıkmaktadır (4,52,68).

- 1- HBV kaçış (S - escape) mutantları: Tanısal sistemlerde kullanılan antikorlar ile HBsAg'nin birleşmesini ve dolayısıyla saptanabilmesini olumsuz yönde etkileyen mutasyonlar taşıyan HBV izolatları ' kaçış (escape) mutantlar' olarak adlandırılır. Bu mutasyonlar genellikle viral genomun S bölgesinin 'a' determinantında yer alan 5 bölgeden birinde izlenmektedir. Ayrıca viral genomda P ve S genlerinin çakışmasından dolayı antiviral ilaç baskısı sonucunda oluşan polimeraz mutasyonlarının bazıları da HBsAg'de yapısal değişikliklere neden olabilmektedir. Kaçış mutantlarının ortaya çıkışında enfeksiyonun doğal gidişi sırasında oluşan varyantların, immun sistem baskısı ile pozitif seçilime uğrayarak baskın hale gelmesi süreci etkili olmaktadır.
- 2- Geçirilmiş enfeksiyon sonrasında izlenen gizli HBV enfeksiyonu: Geçirilmiş HBV enfeksiyonu sonrasında karaciğer, periferik kanda

mononükleer hücreler ve serumda uzun süreli HBV – DNA varlığı gösterilebilmektedir. HBV – DNA'nın kullanılan doku ve saptama yöntemine göre miktarı değişmekle birlikte, enfeksiyonu geçiren kişilerde viral yükün 5 – 100 IU/ml düzeylerinde kaldığı saptanır. Enfeksiyonu geçiren bireylerden elde edilen HBV izolatlarının çoğunun 'wild –type' virüs olduğu ancak nadiren 'pre –kor', polimeraz ve kaçış mutantlarının saptandığı gösterilmiştir.

- 3- İzole anti – HBc sendromu: Hepatit B'ye bağlı serolojik profillerden dikkat çekici olanlardan birisi de anti – HBs antikorlarının negatif olmasına karşın anti – HBc antikorlarının saptanması nedeniyle izole anti – HBc sendromu olarak tanımlanan durumdur.
- 4- Sadece HBV – DNA pozitifliği ile gizli HBV enfeksiyonu: Geçirilmiş HBV enfeksiyonları, kaçış mutantları ya da izole anti – HBc sendromu durumlarının hepsinde anti – HBc antikorlarının saptanması gizli HBV enfeksiyonunun tanımlanmasında ve olası geçiş riskinin değerlendirilmesinde yeterli olabilir. Ancak gizli HBV enfeksiyonlarının %20'sinde tüm serolojik belirteçler negatif izlenmekte ve HBV – DNA saptanması enfeksiyonun gösterilmesinde eldeki tek veri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tablo 2.4.2. Hepatit B Enfeksiyonları ve Serolojik Profiller(4)

Klinik durum	HBs Ag	Anti – HBs	Anti – HBc	HBe Ag	Anti – HBe	HBV - DNA
Akut HBV	+	-	+	+	-	+
Geçirilmiş HBV	-	+	+	-	+/-	-
Kronik HBV	+	-	+	+	-	+
HBV taşıyıcılığı	+	-	+	-	+	+
Aşılama	-	+	-	-	-	-
Gizli HBV	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+

2.4.4. Gizli HBV Enfeksiyonunda Serolojik ve Moleküler Tanı

HBV enfeksiyonunda sırasıyla HBsAg, anti – HBc, anti – HBs oluşumu ve HBsAg klirensi izler. Anti – HBs kaybolursa HBV enfeksiyonuna ait tek belirteç olarak serumda anti – HBc kalır.

Modern moleküler testlerin yardımı sayesinde daha önceden HBV maruziyeti olan ancak HBsAg negatif kişilerde HBV genomunun varlığının devam ettiği gösterilmiştir. Bu persistans hepatosit içinde ccc – DNA'ya dönüşüm ile meydana gelmektedir ve gizli HBV enfeksiyonunun temelini oluşturmaktadır (69) .

Gizli HBV enfeksiyonu tanısı HBsAg yokluğunda serum veya karaciğerde HBV – DNA saptanması esasına dayanmaktadır. HBsAg testlerinde yalancı pozitif sonuçları engellemek için optimal metodolojinin tanımlanması oldukça önemlidir. qHBsAg ile HBV partikülleri arasında korelasyon, kandaki virus partikül sayısını enfeksiyonun bulunduğu döneme uygun olarak saptama aralığının genişlemesiyle, önemli bir anahtar noktadır. HBsAg kuantifikasyonunda (miktar belirtilmesinde) virus, konak ve test kitleri ile ilgili olarak bazı problemler yaşanmaktadır. Doğru nicelik ölçümü yapılması için

uluslararası standardize sayıların bilinmesi gereklidir (7).

Gizli HBV enfeksiyonunda altın standart karaciğer dokusundan veya kandan DNA ekstraksiyonudur. Bu amaçla duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek testlerin kullanımı önerilmektedir. Gizli HBV enfeksiyonu olan hastaların serumunda DNA düzeyi genellikle 200 IU /ml'den daha düşüktür (66) . Bu değer, HBsAg pozitif HBV enfeksiyonlu hastalardaki değerden oldukça düşük olup, rutin hibridizasyon yöntemi ile belirlenemez. Rutinde kullanılan standardize bir PZR metodu yoktur. Her reaksiyona karşılık < 10 kopya saptayabilen Nested –PCR, RT- PCR ve TMA yöntemleri önerilmektedir. Serum örneğinden DNA'nın ayrıştırılması, kullanılacak testin duyarlılığı, kullanılan total DNA miktarı ve PZR primerleri sonuçların güvenilirliği açısından çok önemlidir. PZR testlerinin çoğunda primer X veya S genine aittir. Serumla çalışıldığında S genini çoğaltanlar, karaciğer için ise X genini çoğaltanların daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (70,71).

Anti – HBc, HBV ile teması olan her bireyde saptanmaktadır. İmmün yetmezliği olan veya HBV varyantı ile enfekte olan kişilerde anti – HBc tespit edilemeyebilir. Gizli HBV enfeksiyonunda ideal bir belirteç olmamakla birlikte, kan transfüzyonu, organ transplantasyonu yapılacak veya immüsupresif tedavi alacak olan hastalarda eğer HBV – DNA testlerini yapmak mümkün değilse mutlaka anti – HBc testini değerlendirmek gereklidir(70). Ayrıca intermittan viremi olabileceğinden dolayı HBV – DNA test edilse dahi anti – HBc antikörlerinin varlığı araştırılmalıdır (72).

2.4.5. Gizli HBV Enfeksiyonu ve Hemodiyaliz

Hemodiyaliz (HD) hastaları immüsupresif olmaları, invaziv işlemlere maruz kalmaları, ortak makine kullanımı ve normal popülasyona göre daha fazla kan transfüzyonuna ihtiyaç duymaları nedeni ile parenteral yol ile bulaşan enfeksiyonların riski daha fazla olmaktadır. HD hastalarında HBV aşısına yanıtın yetersiz olması da gizli HBV enfeksiyonunun bulaşına katkı sağlamaktadır (66).

HD hastalarındaki gizli HBV enfeksiyonu prevalansı kullanılan tanısal tekniklere ve dünyada bulunduğu bölgedeki HBV endemisitesine göre farklılık göstererek % 0 – 58 arasında değişmektedir (73). Cabrerizo ve ark. HD hastalarında gizli HBV enfeksiyonunu % 57,6 bulurken, serumda HBV biyobelirteçlerinin sıklığını %51,5 oranında tespit edebilmişlerdir (56). Motta ve ark. yapmış olduğu çalışmada 100 HBsAg negatif HD hastasında %15'inde HBV – DNA tespit edilmiştir (74).Kore'de yapılan araştırmada iki farklı kantitatif moleküler yöntem (COBAS Amplicor HBV monitor test ve TaqMan real – time PCR) kullanılmış olup, bu yöntemler 94 hemodiyaliz hastasından sırasıyla 3 hastada (%3,3) ve 1 hastada (%1,1) HBV – DNA tespit edebilmiştir. (78). Gwak ve ark. yapmış olduğu gizli HBV enfeksiyonu prevalans araştırmasında %73,4'ünde anti - HBs pozitif, %65,8'inde anti – HBc pozitif bulunmuş olup gizli HBV enfeksiyonu tespit edilmemiştir (75). Ülkemizde farklı hasta gruplarında veya kan donörlerinde yapılan çalışmalarda gizli HBV enfeksiyonu prevalansı % 0 - 36,4 olarak bildirilmiştir. Çalışma gruplarına göre belirtecek olursak anti – HCV pozitif hemodiyaliz hastalarında %0 – 36,4, anti –HCV negatif hemodiyaliz hastalarında %7 oranında olduğu bildirilmiştir (76).

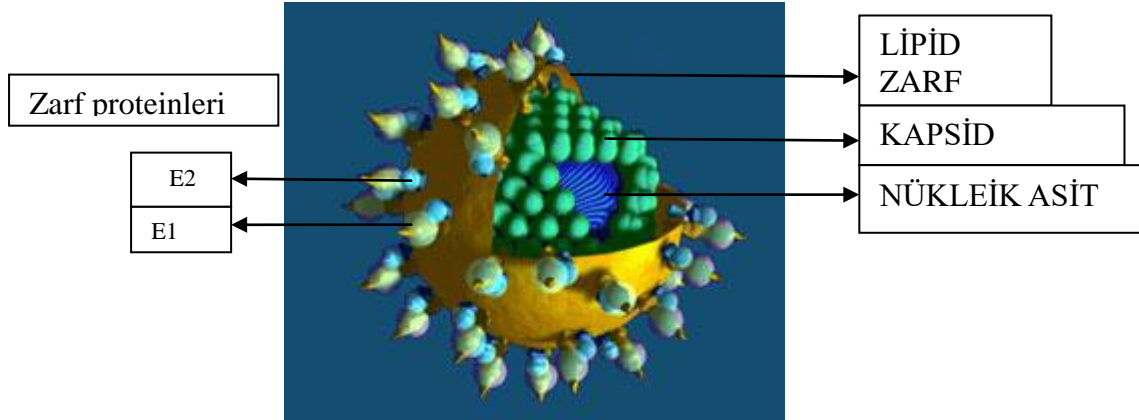
Gizli HBV enfeksiyonu olan hastalar HD ünitelerinde diğer hastalara bulaş için bir kaynak oluşturmaktadır. Bu nedenle diyaliz çalışanları ve hastalara yeterli dozda HBV aşısı yapılarak bağışıklık oluşturulması ve bu bağışıklığın devamlılığının korunması, sıkı enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulaması sağlanmalı, diyalizatların yeniden kullanım (reuse) işleminden kaçınılmalı ve HBV pozitif olduğu bilinen hastaların ayrı odalarda hemodiyaliz işleminin uygulanması gerekmektedir (73,77).

2.5. Hepatit C Virüsü

2.5.1. Hepatit C virüsü yapısı

Hepatit C virüsü (HCV) Flaviviridae ailesinin Hepacivirus cinsinde yer almaktadır. HCV yaklaşık 50 – 80 nm çapında küresel bir yapıda, lipid zarf taşıyan küçük RNA virüsüdür. HCV'nin immun elektron mikroskop ile görüntülenmesi başarılı olmuş olup 55 – 65 nm büyüklüğünde, üzerinde zarfı delerek çıkan ince dikensi yapılar taşıyan partiküller görüntülenmiştir. Deterjan ile işlem gören viriyon 33 nm'lik kor partiküllerinden oluşmaktadır(79,80).

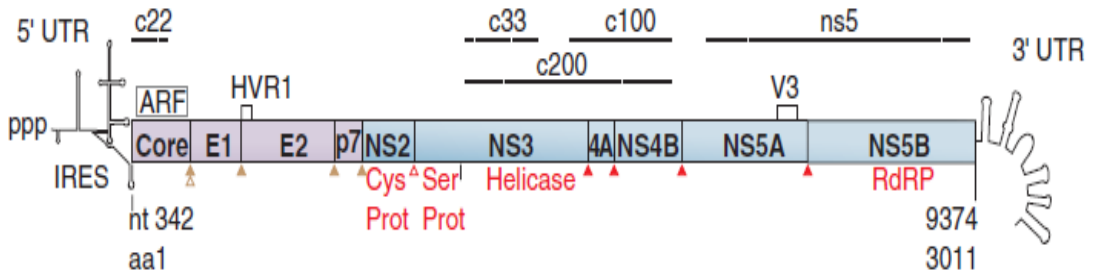
Hepatit C araştırmalarında en büyük engellerden biri virüsün hücre kültüründe üretilmemesi olmuştur. Geçtiğimiz yıllarda geliştirilen replikon sistemi kısıtlı da olsa virüsün in vitro incelenmesine olanak sağlamıştır. Replikonlar hepatoma hücre dizilerinde yoğun de novo protein ve viral RNA sentezine neden olmuş ancak enfeksiyöz virus yapımı gerçekleşmemiştir. Fulminan hepatitli bir hastadan soyutlanan vahşi tipte bir virüsün genetik olarak değiştirilmesi ile elde edilen enfeksiyöz kimerik bir virüsün keşfiyle mümkün olmuştur. Enfeksiyöz HCV partiküllerinin hücre kültürü ortamında üretilmesi HCV araştırmalarında çok önemli bir gelişme olmuştur(80,81).



Şekil 2.5.1.HCV virionunun şematik yapısı

2.5.2. HCV genomu

HCV genomu tek zincirli, pozitif polariteli bir RNA molekülüdür. Yaklaşık 9600 kb uzunluğundadır. Hemen hemen tüm genomu kapsayan tek bir open reading frame (ORF) içerir. ORF'nin her iki ucunda 5' ve 3' translasyon olmayan (untranslated region ; 5'UTR, 3'UTR) genom bölgeleri bulunmaktadır. ORF'nin kodladığı yaklaşık 3020 aminoasit uzunluğundaki polipeptid virus ve konak proteinazları tarafından kesilir ve işlevsel olarak farklı proteinler oluşur (79,82,83).



Şekil 2.5.2. HCV genomu organizasyonu ve viral poliproteinler (84)

5'UTR

Genomun 5' ucunda bulunan bu bölge 341 nükleotid uzunluğundadır. Tüm dünyada bulunan HCV suşları arasında çok fazla düzeyde benzerlik gösterir. Bu özellik nedeni ile HCV viremisinin saptanması ve kantifikasyonu çalışmalarında hedef bölge olmaktadır. 5' UTR HCV proteinlerinin translasyonu için gereken işlevleri yapmaktadır. Bu bölge 'internal ribosomal entry site (IRES)' içerir. Böylece 40S'lik ribozomal alt üniteye bağlanır ve poliprotein translasyonunda rol oynar (79).

HCV genomunda protein sentezinin ilk adımını oluşturan bu bölge gelecekte antiviral tedavi seçeneklerinde hedef bölge olabilir. Ayrıca HCV'nin karaciğer doku tropizmi nedeniyle karaciğer hücrelerine bağlanmasında 5'UTR tamamlayıcı görev almaktadır. Karaciğer spesifik microRNA 122 (miR – 122) ile 5'UTR arasındaki bağlanma HCV replikasyonu için gereklidir (84).

3' UTR

Bu bölge yaklaşık 27 ile 54 nükleotidi kapsamaktadır. HCV'nin farklı genotiplerine göre değişmek üzere, poly – U ya da poly – A ile sonlanmaktadır. 3'UTR bölgesinin viral genom replikasyonunda pek bir etkisi olmadığı düşünülmektedir (79,85).

3' – X dizisi 98 nükleotid uzunluğunda, poly – U bölgesinden sonra gelen çok iyi korunmuş bir bölgedir. 3' – X dizisinin virus replikasyonunda, negatif RNA zincirinin sentezinin başlamasında rol oynayan bir ' replikaz tanıma bölgesi' olarak işlev gördüğü sanılmaktadır (79,84).

HCV'nin kodlayan bölgesi

HCV büyük bir polipeptid kodlamaktadır. Daha sonra virus ve konak proteazları tarafından kesilerek işlevsel olarak farklı en az 10 protein oluşur. Poliproteinin N-ucundan itibaren yaklaşık $\frac{1}{4}$ bölümü virüse ait yapısal proteinleri kodlarken geri kalan kısmı ise yapısal olmayan proteinleri oluşturur (79,80,84,86).

Yapısal proteinlerden; kor protein (C) , E1 ve E2 zarf proteinleri virus replikasyonunda gereklidir. p7 ve NS2 virus replikasyonunda gerekli olmayan ancak genom yapısına katılan proteinlerdir. Yapısal olmayan proteinlerden NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B viral RNA replikaz kompleksini oluştururlar (84). Kor proteini (c22) N – terminal bölgesindeki ilk kodlanan C – geni ürünüdür. HCV ile enfekte kişilerde bu proteine karşı antikor (anti – HCV) bulunur. Kor proteini etkileri; HBV replikasyonunun baskılanması, hücre siklusunun düzenlenmesi, hücresel protoonkogenlerin transkripsiyonun düzenlenmesinde değişiklik, apoptozun indüksiyonu ya da baskılanmasıdır(79,84).

ARFP/F (alternate reading frame protein/ F) proteini N – terminal bölgesinde kor proteini kodlama bölgesinden oluştuğu gözlenmektedir(85,87). Bu proteinin HCV hayat döngüsünde ne tür bir rol aldığı henüz kesin değildir. HCV enfeksiyonu ve replikasyonu için gerekli olmadığı ancak HCV enfeksiyonu

patogenezinde rol aldığı düşünölmektedir(87,88). HCV genotipine göre ARFP/F proteini kodlayan genin lokalizasyonun değiştiği bilinmektedir(89).

Zarf glikoproteinleri olan gp 35 ve gp 70; C – geninden sonra gelen, E1 ve E2 gen bölgelerinin ürünüdür(79). E2 geni konak hücreye girişte reseptöre bağlanma için gerekli olan alt üniteyi içermektedir(82). E2 geninin önemli bir özelliği gp 70 proteinin ilk 27 aminoasidine denk gelen bölgenin çok fazla değişkenlik göstermesidir. Bu bölge ‘hypervariable region 1’(HVR – 1) olarak isimlendirilir(85,86). Enfekte kişilerde oluşun antikolar HVR – 1 bölgesini temsil eden peptitler ile reaksiyona girmektedir. Bu değişkenliklere yönelik etkin nötrale edici antikolar türümsü (quasispecies) viral partiküllerin ortaya çıkışına neden olur ve bu antikolar ile daha zayıf reaksiyon verir. Bu durum immun sistemden kaçışı sağlayan bir mutasyon bölgesi olduğunu ortaya koymaktadır(79,84-86).

p7 proteini yapısal ve yapısal olmayan proteinlerin arasında yer alır. *In vivo* virus enfeksiyonu ve enfeksiyöz HCV parçacıklarının hücre içinde üretimi için gerekli bir proteindir, ancak RNA replikasyonu için gerekli değildir (90). p7, endoplazmik retikuluma integral membran proteini olarak yerleşmiştir. p7 bu viroporin rolüyle viral parçacık olgunlaşması ve salınımı için görev yapabilir (82,90). p7 bölgesi çıkarıldığı zaman virus enfeksiyöz olma özelliğini kaybetmektedir(86).

NS2/3 bir otoproteazdır. NS2/3'ün ayırımında NS2 ve NS3'ün N-ucunun üçte birinden oluşun bölge otoproteaz olarak görev alır (83,85). NS2 proteini HCV replikasyonu için gerekli değildir(91).

NS3/NS4A kompleksi HCV replikasyonunda gerekli ve önemli bir yapıdır. NS3 serin proteaz ve RNA helikaz komponentine sahiptir. NS3 serin proteaz bölgesi HCV poliproteininin etkin olarak işlenmesi için gerekli fakat tek başına yeterli değildir. Bunun için bir diğer protein olan NS4A kofaktör olarak gereklidir (92).

NS4B, yüksek derecede hidrofobik özelliklere sahip olup, HCV replikasyon kompleksi için gerekli olan membranımsı ağ oluşumunu uyarmada görev alır(82,85).

NS5A bir fosfoprotein olup, NS5A'nın fosforlanmasının HCV'nin hayat döngüsünde önemli bir role sahip olduğu düşünülmüştür. İnterferon cevabının düzenlenmesinde ve hücreler arasında sinyal sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır(82,85).

NS5B RNA bağımlı RNA polimeraz aktivitesine sahiptir ve yeni RNA genomunun sentezini sağlar(82).

2.5.3. HCV Genotipleri

HCV'nin genetik heterojenite derecesi 1990'ların başında kesin olarak anlaşılması ile bu varyantların sınıflaması için farklı ve birbirleri ile uyum göstermeyen yöntemler uygulanmıştır. Filogenetik yöntemler ile 2005 yılında HCV'nin altı genotipi ve çok fazla sayıda subtipi olduğu gözlenmiştir. 2005 yılından bu yana sadece bir tane kesinlik kazanmayan bir genotip (7a) tanımlanmıştır (84,93).

Ülkeler arasında HCV genotiplerinin frekansı değişmekle birlikte dünyada en yaygın olan genotip 1 ve subtip 1b'dir (94). Subtip 1a, 1b, 2a ve 3a yüksek gelirli ülkelerde özellikle Japonya, Batı – Doğu Avrupa ve Kuzey Amerika'da daha geniş dağılım göstererek tüm dünyada yaygın bulunmaktadır. Bu subtiplere epidemik subtipler denmektedir. Ancak bazı genotipler (4, 5, 6, 7) belirli coğrafi bölgelere sınırlıdır. Bunlar endemik subtipler olarak isimlendirilmektedir. Genotip 4 çoğunlukla Mısır olmak üzere Kuzey ve Orta Afrika'da, genotip 5 Güney Afrika'da, genotip 6 ise Güneydoğu Asya'da görülmektedir. Genotip 7 ise Kanada'da Kongo'lu bir göçmende tespit edilmiştir(94,95).

Ülkemizde de HCV genotiplerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda baskın genotipin HCV genotip 1b olduğu görülmüştür (95-97). Genotipler enfeksiyonun seyrinin öngörülmesini sağlamaz, ancak olası tedavi cevabını öngörerek tedavi süresine karar verir (86).

2.6. HCV Epidemiyolojisi

2.6.1. Hepatit C virüsü enfeksiyonunun prevalansı

HCV tüm dünyada yaygın olarak görülen bir enfeksiyon etkenidir. Akut ve kronik karaciğer hastalığına neden olabilir. Tüm dünyada HCV ile enfekte 130 – 150 milyon insan vardır. Her yıl 3 – 4 milyon insanda yeni HCV enfeksiyonu gelişmekte olup HCV'ye bağlı komplikasyonlar nedeni ile 350000 – 500000 kişi hayatını kaybetmektedir (98,99).

Tahmini prevalansın en düşük olduğu Kuzey Avrupa'da HCV prevalansı %1'den düşüktür, prevalansın yüksek olduğu ülkeler ise Asya ve Afrika'da yer alır. En düşük prevalans İngiltere ve İskandinav ülkelerinden (%1'in altında), en yüksek prevalans ise Mısır'dan (%15-20) bildirilmiştir. Ülkemiz dünya haritasında prevalansı %1-1,9 arasında olan ülkeler içinde yer almaktadır(100). Ülkemizde Türk Kızılayı Kan Merkezi'nin 2008-2012 yılları arasındaki verileri incelendiğinde sivil donörde anti-HCV pozitifliğinin % 0.02-% 0.004 arasında olduğu gözlenmektedir. Ülke genelinde böbrek hastalarında (hemodiyaliz, periton diyalizi, transplantasyon yapılan hastalar) hepatit serolojisi ile ilgili olarak 2013 yılı sonunda yapılan bir değerlendirmede anti-HCV pozitiflikleri hemodiyaliz hastalarında % 6.94, periton diyalizi hastalarında % 2.72, böbrek transplantasyon hastalarında ise % 5.82 olarak bildirilmiştir (3).

HCV enfeksiyonu coğrafyaya ve zamana göre farklılıklar gösterir. ABD, Avustralya, İspanya, İtalya ve Japonya gibi ülkeler ve Türkiye ortalama HCV prevalans oranları yönünden dünya haritasında aynı dilimde (%1-1,9) yer almalarına karşın yaş spesifik HCV prevalans paternleri yönünden oldukça farklıdır. Türkiye, İspanya, İtalya, Japonya ve Çin gibi ülkelerde ise yaşa özgü prevalans yaş ilerledikçe tedrici olarak artmaktadır.Bu ülkelerde ve bizim

ülkemizde anti - HCV pozitif olanların büyük kısmı 50 yaşın üzerindedir ve bu da uzak geçmişte örneğin 40-60 yıl önce HCV enfeksiyon riskinin yüksek olduğunu göstermektedir(100).

2.6.2. Hepatit C Virüsünün bulaş yolları

HCV bulaşması en belirgin şekilde ya büyük miktarda ya da tekrarlayan perkütan temaslar sonucunda (örneğin; enfekte donörden kan transfüzyonu ya da organ transplantasyonu veya damar içi uyuşturucu kullanımı) gerçekleşir. Yalnızca bir kez perkütan temas (kazayla iğne batması) ile kan veya diğer vücut sıvılarına mukoza teması (enfekte anneden bebeğe geçiş veya enfekte partnerle cinsel ilişki) sonucu HCV bulaşı daha düşük orandadır(101).

Klasik olarak HCV bulaşı ile ilgili olarak pek çok risk faktörü mevcuttur. Bunlardan bazıları yasal olmayan ilaç kullanımı, hemodiyaliz, kan ve kan ürünleri transfüzyonu , tatuaj, organ transplantasyonları, akupunktur ve sağlık çalışanlarının iş kazalarıdır (28).

Günümüzde kan donörlerinde serolojik testlerin yapılması ile birlikte transfüzyon yoluyla HCV bulaşması hemen hemen ortadan kalkmıştır. Kan yolu ile HCV alanların tamamına yakını 1990 yılından öncedir. Serolojik tetkiklerin gelişmesi ile günümüzde kan transfüzyonundaki HCV bulaş riski bir milyon üniteye bire inmiştir (99). Çok sık olarak kan ve kan ürünü alan hemofili ve talasemi gibi hastalarda, bu ürünlerdeki virüslerin inaktivasyonunda yeterli tekniklerin kullanılmadığı yıllarda HCV enfeksiyonu prevalansı %100'e varırken, günümüzde bu rakam %0'a yaklaşmıştır (102).

HCV enfeksiyonunun parenteral temas sonrası riski iyi tanımlanmış olmak ile birlikte, vertikal bulaşına dair yayınlardaki bulgular çelişkilidir. HIV negatif gebe popülasyonunda HCV bulaşı %10'un altında bulunmuş, HIV koenfekte anneleri kapsayan çalışmalarda oran daha yüksek bulunmuştur. Bulaş oranlarındaki belirgin farklılığın maternal viremi düzeyi ve HIV enfeksiyonu durumu dışında da sebebi olduğu açıktır. Bu heterojenite viral

genotip, karaciğer hastalığının derecesi ya da doğumun şekli gibi diğer potansiyel risklerin farklı prevalanslarına kısmen bağlı olabilir(28,103).

Son yıllarda hemodiyaliz hastalarındaki anti-HCV sıklığı azalmakla beraber ülkeden ülkeye değişiklik göstermekte ve bu oran %4-70 arasında değişmektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde anti-HCV oranı %5'in altında iken, Japonya'da %30-50'dir (102). Diyaliz hastalarındaki HCV riski; diyaliz süresi, diyaliz tipi (hemodiyaliz veya periton diyalizi), diyaliz ünitesindeki HCV prevalansı ve kan transfüzyonu sıklığı ile ilişkilidir. Bu ünitelerdeki HCV prevalansının fazla olması enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır. Genel hijyen ve makinelerin sterilizasyonu konusunda uyarılar yapılmasına rağmen hastalık kontrolü ve önleme merkezi ["Centers for Diseases Control and Prevention", (CDC)] diyaliz makinelerin izolasyonunu ve hastaların ayrılmasını önermemektedir (77).

Cinsel yolla bulaş oranı özellikle birden fazla cinsel partneri olanlarda, homoseksüellerde ve indeks vaka HIV pozitif ise artmaktadır. Tek eşli heteroseksüellerde ise risk çok düşüktür(99,104).

Aile içi bulaşta indeks hasta ile temas süresinin uzunluğu riski artırmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda aile bireyleri arasında anti-HCV pozitifliğinin %4,9-7 olduğu görülmüştür. Bu oranlar normal popülasyondan fazladır. Bulaş sıklıkla diş fırçası, jilet ve manikür, pedikür aletleri gibi özel eşyaların kullanımı sonucunda olmaktadır(102,105)..

Organ transplant alıcıları HCV enfeksiyonu için ciddi risk taşırlar. Antikor testleri immünsüprese organ alıcılarında enfeksiyonun prevalans ve bulaşını göstermede daha az değerlidir. Bu nedenle HCV antikoru kaybolan veya gelişmeyen bu tip hastalarda HCV – RNA testi gerekebilir. HCV pozitif donörden seronegatif alıcıya yapılan nakilde HCV enfeksiyonu ve karaciğer hastalığı riski yüksektir (106,107).

Dünyada yaklaşık 10 milyon yasal olmayan damar içi ilaç kullanan insanda anti – HCV'nin pozitif olduğu tahmin edilmektedir. Akut enfeksiyonların önemli bir kısmı yasal olmayan damar içi ilaç kullanımına bağlı gelişmektedir (99). Yapılan bir çalışmada bir yıl ve daha kısa süreli damar içi uyuşturucu kullanan 716 kişinin kan incelemesinde anti – HCV seroprevalansı %64,7 olarak bildirilmektedir. Oysa aynı grupta HBsAg seroprevalansı %49,8 ve HIV seroprevalansı %13,9 olarak bulunmuştur(108). Ülkemizde bu yolla HCV geçişi çok nadirdir. Bir çalışmada kronik hepatit C hastalarında damar içi uyuşturucu kullanım oranı %3,1 bulunmuştur(100).

HCV enfeksiyonu olan hastalarda daha önce hastanede kalma bir risk faktörüdür. Nozokomiyal bulaş; yetersiz dezenfeksiyon ve kontamine aletlerin kullanımı sonucu olmaktadır(102). Mesleki bulaşma ise daha çok kontamine iğnenin sağlık çalışanına batması sonucu olmaktadır ve serokonversiyon insidansı yaklaşık %1,8'dir. İğne çapının artması ve yaranın derinliği ile orantılı olarak bulaşma ihtimali artar. Enfekte kanın mukozaya ya da bütünlüğü bozulmuş deriye teması sonrası enfeksiyon gelişimi çok nadirdir(100).

2.7. Hepatit C Virüs Enfeksiyonu

Akut hepatit C olgularının çoğu sessiz, ılımlı, ikterik olmayan şekilde seyretmesi nedeni ile tesadüfen tanı konulmaktadır. İnkübasyon süresi ortalama 6 – 8 haftadır. Bu süre 2 – 26 hafta arasında değişir. Kan ve kan ürünleri ile bulaşta virüsün miktarı ile ilişkili olarak inkübasyon süresi daha da kısadır. Temastan sonra genellikle karaciğer enzimlerinin yükselmesinden 1 – 4 hafta önce kanda HCV – RNA pozitifleşir. Enfeksiyonun ilk 8 – 12 haftasında viremi pik yapar. Anti- HCV antikorları virüs alındıktan 20 – 150 gün sonra (ortalama 50 gün) pozitifleşir. ALT yükselmesi ise genellikle dördüncü haftadan sonra olur (109,110). Klinik belirtiler ortaya çıktığında öteki hepatitlere göre daha hafiftir. Çoğunlukla asemptomatik olmakla birlikte halsizlik, iştahsızlık, kas ağrısı, bulantı, kusma, sağ üst kadranda ağrısı, idrar renginde koyulaşma gibi semptomlar görülebilir. Sarılık %20'den daha az olguda görülür. Serum aminotransferaz ve bilirubin seviyeleri fazla yükselmez. ALT'nin normalleşmesi,

hastanın virüsten temizlendiğini göstermez. Hastaların %15 – 20'si tam olarak iyileşebilirken geri kalanlarda hastalık kronikleşir(38,109).

Konak immün cevabı, cinsiyet, bulaş yolu, akut hepatit kliniğinin ciddiyeti, sarılığın eşlik etmesi, immünsüpresif tedavi, HIV enfeksiyonu varlığı HCV klerensini etkileyen faktörlerdir (111).

HCV'nin fulminan hepatitteki sıklığı tartışmalıdır. Japonya'dan bildirilen yayınlarda daha sık bir etken iken, batı ülkelerinde nadir bir fulminan hepatit etkenidir (111).

Akut hepatit C enfeksiyonu geçiren kişilerde en az 6 ay kanda HCV – RNA pozitifliğinin devam etmesine kronik hepatit C enfeksiyonu denir. HCV ile enfekte kişilerin %50 – 85 kadarında uzun süreli viremi ile giden persistan enfeksiyon gelişir (110). Çocukluğunda ya da genç erişkin döneminde enfekte olan kişilerde HCV klirensi yaşlılara göre daha yüksektir. Olay dekompanse siroz veya hepatosellüler karsinoma (HSK) aşamasına gelmemişse, kronik hepatit C tanısı konulan hastaların yarısından fazlasında tanı, çeşitli nedenlerle yapılan tetkiklerde veya kan bağıışı esnasında konulmaktadır, yine bunların yarısından çoğunun yakınması yoktur ve ALT düzeyi normaldir(112). HCV-RNA düzeyi sabit seyrederken serum ALT düzeyleri semptomlardan bağımsız olarak dalgalanmalar gösterir, ancak ALT düzeyinin normal olması karaciğer hasarının olmadığını göstermez(110). Bu nedenle aminotransferaz düzeyi normal olsa dahi sürekli olarak hastaların izlenmesi gerekmektedir.

Kronik HCV enfeksiyonunun en önemli sonucu hepatik fibrozisin ve bunun sonucunda siroz ve HSK'nin gelişmesidir. Kronik hepatit C'nin en iyi prognostik göstergesi karaciğer histolojisidir. Hafif nekroz ve enflamasyonu, sınırlı fibrozisi olan hastaların prognozu oldukça iyidir; siroza ilerleme oranları düşüktür. Bunun yanında, orta ya da şiddetli nekroinflamasyonu veya fibrozisi olan hastalarda 10-20 yıl sonra siroza ilerleme ihtimali yüksektir. Kompense siroz gelişen hepatit C olgularında 10 yıllık yaşam oranı %80 dolayında,

mortalite ise yılda %2-6 oranındadır. Bu hastaların yılda %4-5'inde dekompanseasyon, %1-4'ünde ise HSK gelişir(109,111).

HCV enfeksiyonu ekstrahepatik bulgularla da ortaya çıkabilmektedir. Bunlar içerisinde membranoprolifertaif glomerülonefrit, esansiyel mikst kriyoglobulinemi, porfiriya kutanea tarda, lökositoklastik vaskülit, fokal lenfositik sialoadenit, Mooren's korneal ülserleri, liken planus, romatoid artrit, tiroid hastalıkları, "nonhodgkin" lenfoma ve DM gibi hastalıkları sayılabilir. Birçok HCV pozitif hastada organa spesifik olmayan bir takım otoantikolar da pozitif saptanır (örneğin; %21 hastada antinükleer antikor (ANA) >1:40, %21 hastada anti-düz kas antikor (ASMA) >1:40, %5'inde anti-"liver/kidney" mikrozomal antikor (anti-LKM-1) pozitifliği gibi). Kriyoglobulinler %40-50 kadar hastanın serumunda tespit edilebilir(110).

2.7.1. Hepatit C Virüsü Enfeksiyonunun Tanısı

2.7.1.1. Serolojik Tanı : HCV enfeksiyonunun tanısında kullanılan en pratik yöntem kanda ELISA ile anti – HCV antikorlarının belirlenmesidir. Üçüncü kuşak ELISA testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü ikinci kuşak testlerden daha yüksektir. Ayrıca serokonversiyonu daha kısa sürede saptarlar (84,109). Günümüzde HCV'nin dört ayrı bölgesine yönelmiş antikorları tanıyan üçüncü kuşak kitlerle, akut HCV enfeksiyonunda anti – HCV 4 – 10 haftada pozitifleşmektedir.(86,109). İmmünsuprese kişilerde, HIV enfeksiyonu olanlarda, hemodiyaliz hastalarında, HCV ile ilişkili esansiyel mikst kriyoglobulinemisi olanlarda kanda antikor saptanmayabilir.

ELISA ile anti –HCV testi tarama yapılması önerilenler(113);

- 1996 yılından önce kan ve kan ürünleri transfüzyonu yapılanlar
- Kan ve kan ürünleri sürekli kullanan hastalar (hemofili gibi)
- HIV ve HBV enfeksiyonu olanlar
- Hemodiyaliz hastaları

- Kan , organ ve doku vericileri
- Organ transplantasyonu yapılanlar
- Başka bir neden ile açıklanamayan transaminaz yüksekliği olanlar
- Damar içi ilaç kullanma alışkanlığı olanlar
- HCV enfekte anneden doğan bebekler (doğumdan 18 ay sonra)
- HCV pozitif kan ile perkütan veya mukozal teması olan sağlık çalışanları
- Alkolik karaciğer hastaları.

2012 yılında CDC ; 1945 – 1965 yılları arasında doğan bireylerinde ELISA ile kanda anti – HCV taramasının yapılmasını önermiştir (114).

Hepatit C prevalansının düşük olduğu toplumlarda yalancı anti – HCV pozitiflik oranı yüksektir. Böyle durumlarda Recombinant Immunoblot Assay (RIBA) testleri ile doğrulama yapılması önerilmektedir. RIBA,ELISA’da kullanılan aynı kuşak proteini kullanır. Bunlar anti – HCV antikorunun hangi antijenik yapıya geliştiğini göstermek için kullanılır (86,115).

Otoimmün hepatitli olgularda yalancı anti – HCV pozitifliği saptanabilir(110,116).Tedavi olan ya da olmayan hastalarda tedaviye cevap ne olursa olsun anti – HCV antikorları kaybolmaz. Bu nedenle tedavi yanıtında tekrar test edilmesine gerek yoktur (109).

Kantitatif HCV kor antijeni aktif hepatit C enfeksiyonu tanısında ve kronik hepatit C enfeksiyonu tedavi takibinde yeri olan, HCV – RNA’ya eş değer duyarlılığı olan bir yöntemdir. Moleküler testlere ulaşamadığı zaman tanı ve tedavinin takibinde kullanılması önerilmektedir.(117) .

2.7.1.2. Moleküler Tanı : : Tarama testleri ile anti - HCV pozitif bulunan hastalarda vireminin gösterilmesi gerekir. Bu amaçla HCV – RNA ’nın serumda gösterilmesi esastır. HCV – RNA genellikle virüs alındıktan sonra 1-2 hafta içinde saptanabilir. Kalitatif RNA testleri viremiyi göstermek için yeterli olmakla birlikte, tedavi planlanan hastalarda ve tedavi takibinde HCV – RNA kantitatif olarak belirlenmelidir. Kalitatif HCV – RNA testleri için alt sınır 50 IU/mL

olmalıdır. Kantitatif testler için IU/mL birimi kullanılır. Bir hastanın takibi olanaklar elverdiği ölçüde aynı test (marka ve yöntem) sürdürülmelidir. HCV – RNA sonucunun polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile negatif bulunması halinde, klinisyen gereksinim duyuyorsa test tekrarlanabilir(113). Viral yük hastalığın şiddetini ve prognozu göstermede güvenli bir belirleyici değildir, ancak viral yükün bilinmesi antiviral tedaviye yanıtın izlenmesinde yararlıdır. Yüksek viral yükü olanlarda relaps daha yüksek oranda bildirilmektedir. Viral yük karaciğerdeki enflamasyon ve fibrozisin şiddeti ile de korele değildir. Bu nedenle enfeksiyon seyrinin ya da karaciğer dışı bulguların takibinde kullanılmaz (109,118). HCV'nin saptanmasında veya HCV RNA'nın kantitatif ölçümünde, sinyal amplifikasyonu (örn. dallanmış-“branched” DNA-bDNA) ve hedefin çoğaltılması (örn. klasik revers transkripsiyon PZR ve gerçek zamanlı PZR) olmak üzere moleküler biyoloji temelli iki tip teknik kullanılmaktadır. Ticari bDNA testi, ELISA yöntemine benzer hibridizasyon temeline dayanır ve HCV RNA'nın kantitatif ölçümüne olanak verir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan hedefin çoğaltılması temelli yöntemlerde genomik hedef genelde 5'-UTR'dir. Bu yöntemeye dayalı ticari testler iyi standardize edilmiştir ve düşük düzeydeki HCV kopyalarının saptanmasına olanak verir. HCV RNA'nın çoğaltılmasına yönelik tüm testler RNA'nın cDNA'ya transkripsiyonu, bunu takiben çoğaltma aşaması ve çoğaltılan ürünlerin kolorimetri ile saptanması aşamalarını gerçekleştirir. Çoğaltılan ürünlerin saptanması aşaması klasik PZR'ı, gerçek zamanlı PZR temelli testlerden ayıran aşamadır. HCV RNA'nın saptanması ve kantitasyonu için geliştirilmiş ticari son testler 'gerçek zamanlı' PZR teknolojisine dayanır. Klasik 'gerçek zamanlı' PZR'den farklı olarak amplifikasyon her bir PZR siklusunda enzimatik reaksiyonla saptanır. Klasik 'gerçek zamanlı' PZR'a göre daha düşük miktarlarda RNA saptanabilir. Ticarileştirilmiş bu teknolojiler örneklerden RNA'nın izole edilmesi (ekstraksiyon) ve amplifikasyonu sürecini birleştiren otomatize platformlar sağlamıştır. Bu testlerle tüm genotipler saptanabilir. Testlerin en büyük avantajı nispeten yüksek duyarlılıktır, ancak tüm PZR temelli testlerde olduğu gibi düşük viral yükü olan örneklerde (serum veya plazma) çoğaltamama ve kontaminasyona bağlı yanlış pozitif reaksiyonların

oluşması gibi riskler söz konusudur. Bu nedenle internal kontroller kullanılmaktadır (109,118).

2.8. Gizli Hepatit C Virus Enfeksiyonu

2.8.1. Gizli HCV Enfeksiyonu Tanımı

Karaciğer enzim anormalliği olan hastaların % 10'unda karaciğer hastalığının nedeni aydınlatılamamıştır. Geçtiğimiz son dekatta nedeni aydınlatılamamış kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda gizli hepatit C virus enfeksiyonu tanımlanmıştır. İlk olarak 2004 yılında Castillo ve arkadaşları tarafından tanımlanan gizli hepatit C virus enfeksiyonu ; serum anti – HCV ve HCV – RNA negatif iken karaciğer hücrelerinde HCV – RNA tespit edilmesi şeklindedir (6). İlerleyen yıllarda Fabrizi ve ark. ise gizli hepatit C virus enfeksiyonunu nedeni bilinmeyen karaciğer enzim anormalliği olan hastaların serumunda anti –HCV ve HCV – RNA negatif iken karaciğer hücrelerinde ve periferik kanda mononükleer hücrelerde HCV – RNA'nın tespit edilmesi olarak tanımlamıştır (119).

Son çalışmalarda iki tip gizli HCV enfeksiyonundan bahsedilmektedir.

- a – Seronegatif gizli HCV enfeksiyonu ; anti – HCV (-)
serum HCV – RNA (-)
- b – Seropozitif gizli HCV enfeksiyonu ; anti – HCV (+)
serum HCV – RNA (-)

Her iki tip gizli hepatit C virus enfeksiyonunda da , hastaların karaciğer hücrelerinde HCV – RNA pozitif olup , PKMNH'de ve/veya serum ultrasantrifüjü ile viral RNA tespit edilebilir (120).

Seropozitif gizli HCV enfeksiyonu yüksek olasılıkla spontan veya antiviral tedavi sonrası virus klerensinin sağlandığı durumlarda karşımıza çıkabilir (121). Ancak antiviral tedavi sonrasında kalıcı virolojik yanıt alınan hastalar ile ilgili yayınların çoğunluğunda bu bilgi doğrulanmamıştır. Bu yüzden seropozitif gizli HCV enfeksiyonu kavramının sorgulanması gereklidir (122-124). Buna karşılık

seronegatif gizli HCV enfeksiyonu varlığı birçok yayın tarafından desteklenmiştir (120).

Seronegatif ve seropozitif gizli HCV enfeksiyonu arasında bazı farklılıklar mevcuttur .

Anti – HCV (-) hastalar ; karaciğer enzimleri normal veya yüksektir ve antiviral tedavi almamıştır.

Anti – HCV (+) hastalar ; genellikle karaciğer enzimleri normal olup çoğunluğu daha önceden antiviral tedavi almıştır.

Bu farklılıklar nedeni ile sonuçların doğru yorumlanması için gizli HCV enfeksiyonunun her iki tipi de ayrı kavramlar olarak değerlendirilmelidir (120).

2.8.2. Gizli HCV enfeksiyonu oluşumunda olası mekanizmalar

Gizli HCV enfeksiyonu oluşumunun açıklanması için yapılan çalışmaları gruplamak istersek konağa ve virüs temelli olarak iki gruba ayırmamız gereklidir(125) .

1 – Konak ilişkili mekanizmalar

a – HCV' ye karşı değişen immün yanıt

b – IL28B polimorfizm varlığı

c – Ribavirine karşı konak direnci

d –HCV ile enfekte B lenfositlerde IFN dirençli fenotip oluşumu

2 – Virus ilişkili mekanizmalar

a – Karaciğer dışı dokuları enfekte edebilen viral mutasyonlar ve türümsümler

b – Karaciğer dışında düşük replikasyonlu viral türümsümlerin varlığı

Gizli HCV enfeksiyonu gelişiminde Th1/ Th2 sitokin dengeleri önemli bir rol oynamaktadır. Mousa ve ark. kronik HCV ve gizli HCV enfeksiyonunda sitokin cevaplarını kıyaslamışlar ve Th1 sitokin yanıtının kronik HCV enfeksiyonunda gizli HCV enfeksiyonu ve sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu bulmuşlardır(126). Polifonksiyonel HCV spesifik Th1 T hücrelerinin CD4+ ve CD8+ bellek hücrelerinin devamlılığının sağlanması spontan HCV klirensi veya tedavi yanıtının daha olumlu sonuçlanacağı için

önemlidir. Pham ve ark. PKMNH'de gizli HCV enfeksiyonunda kronik HCV enfeksiyonuna kıyasla daha fazla IFN – α , IFN – γ , TNF – α var iken daha az IL – 10 olduğunu göstermişlerdir. Bu veriler gizli HCV enfeksiyonu ve kronik HCV enfeksiyonunda farklı sitokin yanıtlarının rol oynadığını göstermektedir(127).

IL28B gen bölgesi tip 3 IFN ailesinin üyesi olan IFN - κ 3'ü kodlar. Tip 3 IFN ailesi ile tip 1 IFN aynı yöndeki yolaklar üzerinden sinyal etkileşimlerini paylaşırlar. Bu yolakların aktivasyonu sonucu antiviral tedaviye cevap artmaktadır. IFN – κ 3'de meydana gelen tekli nükleotid polimorfizmi (SNP) antiviral tedaviye verilen cevabı veya spontan klirensi önemli ölçüde etkiledikleri gözlenmiştir (128). SNP varlığında özellikle T veya G allelinde antiviral tedaviye (PegIFN/Ribavirin) yanıtta azalma ve enfekte PKMNH prevalansında artış gözlenmektedir (129).

Ibarra ve ark. tedavi ile ilerleyen zamanda PKMNH içerisine ribavirin alımının azaldığını kanıtlamışlardır. Bu durum neden PKMNH'lerin rezervuar olarak kaldığını , bu sebepten dolayı tedavi başarısızlığına, enfeksiyonun rekürrensine, bazı vakalarda da gizli HCV enfeksiyonu oluşumuna katkı sağladığını göstermişlerdir(130).Bartolome ve ark. ise HCV ile enfekte B lenfositlerde IFN dirençli fenotipler olduğunu ve bunların PKMNH'de oluşan viral enfeksiyonun derecesine göre farklı varyantların seçimine katkı sağladığını göstermişlerdir (131). Birçok araştırmacı HCV enfeksiyonu olan kişilerde türümsüleri plazmada olmadıkları halde PKMNH'de saptamışlardır. Bu vakalarda plazmada saptanan türümsüler daha fazla replikatif iken , daha az replikatif olan türümsüler ise karaciğer dışı alanlarda kaynak oluşturmakta olduğu farz edilmiştir. Bu türümsüler arasındaki mutasyonlar sonucu doku tropizmi PKMNH olan türümsüler de ortaya çıkmış olabilir. Çok değişkenli E2 bölgesindeki mutasyonlar ile ilgili yapılan çalışmalarda özellikle bu bölgedeki mutasyonların B lenfosit ve monosit içindeki HCV türümsüleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (125).

Viral replikasyonun çok fazla olduğu kişilerde viral kontrolün sağlanamaması nedeni ile oluşan mutasyonlar karaciğer dışındaki dokularda enfeksiyonun oluşmasına neden olabilirler. Karaciğer dışındaki dokularda oluşan enfeksiyonda viral replikasyon ve viral antijenlerin hücre yüzeyinden salınımı daha az olması nedeni ile CD8+Th tarafından tanınmaları ve yok edilmeleri de azalmaktadır (132).

2.8.3. Gizli HCV enfeksiyonu klinik önemi

Birçok araştırmacı farklı yaklaşımlar kullanarak kriptojenik kronik hepatitte gizli HCV enfeksiyonunun varlığını ve olası önemini araştırmışlardır. Kriptojenik kronik hepatitlerde PKMNH'de HCV – RNA test edilmesi ile prevalans %10 bulunmuştur. Elbette ki karaciğerde HCV – RNA bakılacak olursa bu prevalansın ciddi anlamda artış göstererek %25 – 74 arasında değiştiği gözlemlenmiştir(120).

Kriptojenik kronik hepatiti olan 393 hastayı kapsayan altı çalışma bir arada değerlendirildiği zaman karaciğer sirozu ultrasonografi veya histopatolojik olarak gizli HCV enfeksiyonu olan hastaların %7'sinde raporlanmıştır. Bu demek oluyor ki gizli HCV enfeksiyonunun patolojik bir önemi mevcuttur(120).

Tablo 2.8.1. Kriptojenik kronik hepatit hastalarında gizli HCV enfeksiyonu(120)

YAZAR	HASTA SAYISI	GİZLİ HCV ENFEKSİYONU SAYISI (%)	GİZLİ HCV ve SİROZ SAYISI (%)	HCV – RNA varlığı
Zaghloul ve ark	40	4 (%10)	?	PKMNH
Bokharaei ve ark	69	7 (%10)	4 (%57)	PKMNH
Keyvani ve ark	45	4(%9)	4(%100)	PKMNH
Castillo ve ark	100	57 (%57)	3(%5)	KARACİĞER
Idrees ve ark	31	23 (%74)	0	KARACİĞER
Gad ve ark	108	27(%25)	1(%4)	KARACİĞER
Toplam	393	122	12(%7)	

Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı olan kişilerden oluşan 25 kişilik bir hasta grubunda Granieri ve ark. 8 hastada (%32) karaciğer biyopsi materyalinde viral RNA saptarken , Saad ve ark.da aynı hasta popülasyonunda 27 hastadan 11'inde (%41) karaciğer dokusunda viral RNA saptamıştır (133).

Kronik hepatit B hastalarında Castillo ve ark. 82 hastadan 21'inde karaciğerde gizli HCV enfeksiyonu olduğunu kanıtladılar. Bu hastalarda gizli HCV enfeksiyonu olan ve olmayanların karaciğer histopatolojisi kıyaslandığı zaman gizli HCV enfeksiyonunda daha fazla lobülasyon , yüksek fibrozis indeksi ve daha fazla fibroz oluşumunun olduğu gösterildi (134).

Esaki ve ark. HSK tanısı olan bir hastanın tümör içermeyen karaciğer dokusunda HCV – RNA'nın varlığını ispatlamışlardır. Ancak gizli HCV

enfeksiyonu ve HSK arasındaki oluşum mekanizması henüz netliğe kavuşmamıştır (120).

Sağlıklı popülasyonda gizli HCV enfeksiyonu prevalans çalışmalarında bakıldığı zaman De Marco ve ark. İtalya'da kanser ile ilgili yapılan üç farklı epidemiyolojik verilerin kaydının tutulduğu 276 sağlıklı bireyden (karaciğer fonksiyon testleri normal, anti-hcv negatif) dokuz tanesinde (%3,3) PKMNH'de HCV – RNA tespit edilmiştir. Yine Youssef ve ark. 50 sağlıklı gönüllüde PKMNH'de HCV – RNA araştırması ile 2 hastada (%4) viral RNA saptamışlardır. Sağlıklı bireylerde de gizli HCV enfeksiyonu olabileceği için HCV'nin bulaşı açısından önemli bir kaynak ve risk faktörü oluşturmaktadırlar (135).

2.8.4. Gizli HCV enfeksiyonunda moleküler tanı

Uzun dönemde sessiz seyreden gizli HCV enfeksiyonunda hepatosit ve immun sistem hücreleri içindeki düşük düzeyde de olsa virus replikasyonu devam eder. Bu hastaların büyük bir kısmında anti – genomik HCV – RNA zinciri hepatosit içinde belirlenebilir (136). Gizli HCV enfeksiyonu olan hastaların %70'inin üzerinde PKMNH'de viral RNA tespit edilebilmektedir (6). PKMNH'de HCV – RNA tespiti gizli HCV enfeksiyonunda tanı koymada yardımcı olsa da viral RNA'nın karaciğerde tayini altın standarttır (5).

HCV – RNA'nın karaciğer hücresinde belirlenmesi altın standart olmasına rağmen karaciğer biyopsisinin invaziv bir işlem olması nedeniyle her hastada uygulanabilir bir yöntem değildir. Biyopsinin tek başına yeterli olmaması ve HCV'nin lenfotropik özelliğinden dolayı son yıllarda PKMNH'de HCV – RNA saptanmasının duyarlılığı araştırılmaktadır. Ultrasantrifüj ile viral partiküllerin konsantrasyonu sonucu PKMNH'de HCV – RNA tayini ile gizli HCV enfeksiyonu tanısında alternatif bir yöntem olarak bulunmuştur (131). İmmun sistemin farklı hücreleri - CD4 ve CD8 T lenfositler, B lenfositler, monositler – HCV ile enfekte olabilirler. HCV replikasyonu tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Viral replikasyon negatif zincirli RNA molekülünden (anti- genomik HCV – RNA) pozitif zincirli RNA (genomik HCV – RNA) sentezi yoluyla olur. Hem genomik

hem de anti- genomik HCV – RNA zincirleri gizli HCV enfeksiyonu olan hastaların PKMNH’de belirlenebilir (137).

2.8.5. Gizli HCV enfeksiyonu ve hemodiyaliz

HD hastaları parenteral geçiş kaynaklı enfeksiyonlar için yüksek risk grubundadırlar. Bu hastalar immünsupresif olmaları nedeni ile normal işlevleri olmayan B hücre aktivasyonu sonucunda antikor sentezi gecikir ve/ veya seviyeleri düşüktür. Seronegatif hastalarda HCV – RNA varlığı % 1 – 15 arasında değiştii gözlenmiştir (140). Barril ve ark. İspanya’da anormal ALT ve/veya gamaglutamil transferaz (GGT) testleri olan 109 HD hastasına olası gizli HCV enfeksiyonu araştırdıklarında 49 hastada PKMNH’de HCV – RNA pozitif olduğunu görmüşlerdir (5). Almanya’da ise Baid – Agrawal ve ark. HD hastalarında gizli HCV enfeksiyonu varlığının % 0.25 böbrek transplantasyon hastalarında ise %0,5 olduğunu göstermişlerdir. Ancak Almanya’da yapılan çalışmada HD hastalarının %15,3’ünde , böbrek transplantasyon hastalarının ise %12,5’inde karaciğer testlerinde anormallik olduğu gözlenmiştir (142).

Sıkı temas izolasyon önlemleri uygulanması ve recombinan eritropoetin (EPO) kullanılmasına rağmen nozokomiyal enfeksiyon olarak yeni HCV enfeksiyonları karşımıza çıkabilmektedir. Gizli HCV enfeksiyonu olan HD hastalarında antikor tespit edilememesi nedeni ile potansiyel bulaştırıcı konumundadırlar (141).

HCV enfeksiyonu prevalansı son yıllarda gelişmekte olan ülkelerde azalmakla birlikte bazı diyaliz merkezlerinde % 4 – 70 arasındadır. Bu sorunun kaynağı olarak henüz etkin bir aşının geliştirilememesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz uygulanmasından kaynaklanmaktadır. Thongsavat ve ark. yapmış olduğu araştırmada HD ünitelerindeki salgınların araştırılması ve kontrolü için anti – HCV , HCV – RNA yanında PKMNH’de de viral RNA araştırılmasını önermektedir (138,139).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Çanakkale ilinde bulunan en fazla hasta sayısı olan özel bir diyaliz merkezindeki kronik böbrek yetmezliği olan rutin hemodiyaliz uygulanan hastalara gizli HBV ve gizli HCV enfeksiyonunun araştırılması planlandı. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunca onaylanan bu çalışmaya 18 yaş üzerindeki 100 hasta dahil edildi. Hastalardan yazılı onam formu alındı.

3.1. Hastaların seçimi

Özel Diyaliz merkezinde rutin hemodiyaliz uygulanmakta olan hastaların dosyaları incelenerek ALT testi normal seronegatif olan (HBsAg negatif , anti – HCV negatif) hastalar belirlendi. Hastalar ile ilgili demografik verileri, ALT seviyesi, hemodiyaliz giriş yolu, hemodiyaliz süresi, hastalık hemodiyaliz günü, hepatit B aşılama öyküsü, HBsAg, Anti – HBs ve anti – HCV göstergeleri oluşturulan bu forma kaydedildi.

3.2. Örneklerin toplanması ve hazırlanması

Hastaların periyodik kontrolleri sırasında anti – HBc IgG, HBV – DNA, HCV- RNA için 3 ayrı jelli biyokimya tüpüne 5'er ml, PKMNH ayrıştırmada kullanılmak üzere 9 ml EDTA'lı hemogram tüpüne periferik venöz kan örnekleri alındı. Anti – HBc IgG testi Anti – HBc II Reagent(Architect ® Abbott) kit ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışıldı.

HBV – DNA ve HCV – RNA izolasyonu yapmak için alınan kan örnekleri 1500 rpm 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Elde edilen serumlar DNA ve RNA izolasyonu yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı.

PKMNH'in ayrıştırılması için EDTA'lı tüpe 9 ml tam kan alındı. 50 ml falcon tüpüne üretici firma önerileri doğrultusunda 9 ml histopaque®-1077 eklendi. Histopaque ®-1077 üzerine falcon tüpü kenarından yavaşça steril pastör pipeti ile tam kan bırakıldı. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda 400 G devirde 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün ortasında oluşan bulut

görünümündeki hücreler PKMNH olarak tanımlandı ve bu hücreler mikropipet yardımı ile 3 ml alınarak mikrovida kapaklı cryo tüplere alındı. RNA izolasyonu yapılmaya kadar -20°C'de saklandı.

3.3. Kullanılan sistem ve cihazlar

Hazırlanan serum ve PKMNH'ler Anatolia Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri AR-GE laboratuvarında HBV – DNA ve HCV – RNA izolasyon kiti (Magesia ®2448 nükleik asit izolasyon ve PZR setup robotu, Anatolia Geneworks) kullanılarak DNA/RNA izolasyonları sonrası Montaina ®4896 Real Time – PCR cihazında Bosphore® HBV /HCV quantification Kit V1 (Anatolia Geneworks) kullanılarak çalışıldı.

Bosphore® HBV Quantification Kit v1 kiti analitik duyarlılığı 10 IU/ml, lineer aralığı 1×10^1 - 1×10^9 IU/ml'dir.

Bosphore® HCV Quantification Kit v1 kiti analitik duyarlılığı ise 25 IU/ml, lineer aralığı 1×10^1 - 1×10^9 IU/ml arasındadır.

3.4. Gizli HBV enfeksiyonu tanımı

Karaciğer enzimi (ALT) normal olan serumda HBsAg negatif olan bireylerden HBV – DNA pozitifliğinin bulunması durumunda gizli HBV enfeksiyonu olarak tanımlandı.

3.5. Gizli HCV enfeksiyonu tanımı

Karaciğer enzimi (ALT) normal olan serumda anti – HCV ve HCV – RNA negatif saptanan hastalarda PKMNH'de HCV – RNA pozitif bulunması durumu gizli HCV enfeksiyonu olarak tanımlandı.

4. BULGULAR

Çalışmaya Çanakkale İl merkezi sınırı içinde yer alan en fazla hasta sayısına sahip olan özel bir diyaliz merkezindeki , ALT normal , rutin hemodiyaliz uygulanan ve HBsAg negatif, anti – HCV negatif 100 hasta alındı. Çalışmaya katılan hastaların demografik verileri tablo 4.1’de verilmiştir. Hastaların 58’i (%58) erkek, 42’si (%42) kadın idi. Yaş ortalaması $63,5 \pm 12,5$ idi. Hastaların 85’i (%85) arteriyo – venöz fistülden (AVF) diyalize girmektedir. Diğer hastalar ise kalıcı hemodiyaliz kateteriyle diyalize girmektedir. Ortalama diyaliz süresi 67,6 ay idi. Hastaların %95’i haftada 3 gün, % 5’i ise 2 gün diyalize girmektedirler. Çalışmaya alınan hastaların ALT sonuçları değerlendirildi. ALT değeri ortalaması $10,5 \pm 7,2$ idi.

Tablo 4.1. Hastaların genel özellikleri

Yaş (yıl), \pm SS	$63.5 \pm 12,5$
Cinsiyet (K/E)	42 / 58
Altta yatan hastalık n (%)	88 (% 88)
Hemodiyaliz giriş yolu	
Hemodiyaliz kateteri n (%)	15 (% 15)
Arteriyovenöz fistül n (%)	85 (% 85)
Hemodiyaliz süresi(ay) , \pm SS	$67.6 \pm 51,3$
ALT , \pm SS	$10.5 \pm 7,2$

ALT ; alanin aminotransferaz, normal değeri; 0 – 55 IU/ml

SS ; standart sapma

Hastaların altta yatan hastalıkları incelendiği zaman (tablo 4.2) 88 hastanın kronik böbrek yetmezliğine eşlik eden en az bir altta yatan hastalığı olduğu saptandı. En sık altta yatan hastalık 46 hastada görülen HT olarak belirlendi. Diğer altta yatan hastalıklar ise sıklık sırasına göre; 14 hastada DM, 11 hastada DM + HT birlikteliği, altı hastada polikistik böbrek hastalığı, üç

hastada nefrolithiazis, üç hastada glomerülonefrit, bir hastada amiloidoz, bir hastada nörojenik mesane, bir hastada SLE, bir hastada antifosfolipid sendrom, bir hastada ise talasemi olarak belirlendi.

Tablo 4.2. Hastaların altta yatan hastalıkları

Hastalık	N (%)
Hipertansiyon	46
Diyabetes mellitus	14
DM +HT	11
Polikistik böbrek	6
Nefrolithiazis	3
Glomerülonefrit	3
Amiloidoz	1
Nörojenik mesane	1
SLE	1
Antifosfolipid sendrom	1
Talasemi	1
Bilinmeyen	12

DM ; Diyabetes mellitus, HT; Hipertansiyon,
SLE; Sistemik lupus eritematozus

Hastaların hepatit belirteçleri sonuçlarına bakıldığı zaman HBsAg negatif ve Anti- HCV negatif olan tüm hastaların 27'sinde (%27) anti – HBc IgG pozitif bulunurken , anti – HBs pozitifliği 95 hastada (%95) tespit edilmiştir. Hastaların hiçbirinde izole anti – HBc IgG pozitifliği gözlenmemiş olup anti – HBc IgG pozitif olan hastaların hepsinde anti – HBs pozitifliği mevcuttu. Hastaların hepatit B aşısı öykülerine bakıldığı zaman %55'nin en az 3 doz aşısı uygulanmış olduğu görüldü.

Anti – HBc IgG pozitif bulunan 27 hastanın genel özelliklerine (tablo 4.3) bakıldığı zaman 17'si (%63) erkek, 10'u (%37) kadın olup yaş ortalaması 65,4

$\pm 11,4$ idi. 11 hastada aşılama öyküsü mevcut olup diğer hastaların verilerindeki yetersizlik nedeni ile ulaşılamadı. ALT değerlerine bakıldığı zaman ortalama $9,1 \pm 3,5$ idi. Hastaların 21'i (%77,8) AVF ile 6'sı (%22,2) ise hemodiyaliz kateteri ile diyalize girmektedirler. Hemodiyaliz süreleri ortalaması $66,3 \pm 43,7$ ay idi.

Tablo 4.3. Anti – HBc IgG pozitif hastaların genel özellikleri

Yaş (yıl), \pm SS	65.4 \pm 11,4
Cinsiyet (K/E)	10/17
Hemodiyaliz giriş yolu	
Hemodiyaliz kateteri n (%)	6 (%22,2)
Arteriyovenöz fistül n (%)	21 (%77,8)
Hemodiyaliz süresi (ay),(ortanca)	60 (8 – 150)
ALT , \pm SS	9.1 \pm 3,5
Anti – HBs titre, ortanca (min – max)	101 mIU/ml (12 – 803)

Seronegatif olan hastaların gerçek zamanlı PZR yöntemi ile HBV – DNA pozitiflik oranı % 4 (4/100) olarak bulundu. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların genel özellikleri tablo 4.4'de verilmiştir. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların üçü erkek, biri kadın idi. Hastaların yaş ortalaması $57 \pm 16,2$ idi. Hemodiyaliz sürelerinin ortalaması $72,7 \pm 37,5$ ay idi. ALT değerlerine bakıldığı zaman normal sınırlar içinde olup ortalaması $9,7 \pm 2,3$ idi.

Tablo 4.4. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların genel özellikleri

Hastalar	Yaş	Cinsiyet	HD yolu	HD günü(haftada)	HD süresi(ay)	ALT
(42)	33	E	AVF	3	59	13
(58)	61	E	AVF	3	112	10
(98)	67	K	AVF	2	93	8
(100)	67	E	AVF	3	27	8

Gizli HBV enfeksiyonu olan hastaların hepatit belirteçleri tablo 4.5’de verilmiştir. HBV – DNA’nın pozitif bulunduğu hastaların hepsinde anti – HBc IgG negatif olup anti –HBs pozitif idi.

Tablo 4.5. Gizli HBV enfeksiyonu olan hastaların hepatit belirteçleri

Hastalar	HBsAg	Anti –HBs	Anti – HBc IgG	HBV - DNA
(42)	Negatif	1000 mIU/ml	Negatif	61.4 IU/ml
(58)	Negatif	270 mIU/ml	Negatif	56.9 IU/ml
(98)	Negatif	220 mIU/ml	Negatif	60 IU/ml
(100)	Negatif	21 mIU/ml	Negatif	48.6 IU/ml

Seronegatif hemodiyaliz hastalarında gizli HCV enfeksiyonu için serumda ve PKMNH’de gerçek zamanlı PZR ile araştırılmış olup, hastaların hiçbirinde HCV – RNA tespit edilmemiştir.

İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmanın verileri elektronik ortamda SPSS 20.0 paket programına aktarılmış olup veri kontrolü ve analizi bu programda yapılmıştır. Nominal veriler yüzdelerle, sürekli veriler ortalama, standart sapma ve ortanca, minimum ,maksimum değerler ile ifade edilmiştir. Ayrıca bazı hastalara ait veriler teker teker sunulmuştur.

5. TARTIŞMA

Hepatit B virüsü ve hepatit C virüsü bulaş yolları, dünyadaki dağılımı, karaciğer doku tropizmi, hepatosellüler karsinom veya siroza kadar ilerleyebilen kronik enfeksiyon oluşturma eğilimleri olması ile benzer özelliklere sahiptirler(143). Hemodiyaliz hastaları, uygulanan kan ürünü transfüzyonları, invaziv girişimler ve kontamine materyallerle temas sonucunda normal popülasyona göre bu virüsler ile daha sık karşılaşmaktadır. Diyaliz hastalarında HBV enfeksiyonu sıklığı alınan koruyucu önlemler sonucunda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de son 10 – 20 yılda düşüşe geçmiştir. Bu düşüşün nedenlerini kan ürünlerinin HBsAg – AntiHBc açısından değerlendirilmesi, eritropoetin kullanımı ile birlikte transfüzyon ihtiyacının azalması ve HBV aşılama programları olarak sıralayabiliriz (183). Ancak henüz HCV'ye karşı etkili bir aşı geliştirilememiş olması nedeniyle Amerikan Hastalıkları Kontrol Merkezi (CDC); genel önlemlere sıkı uyum, hijyene dikkat ve diyaliz makinelerinin titiz sterilizasyonunu tavsiye etmektedir. Konvansiyonel temizlik ve sterilizasyonun hepatit virüslerini inaktif etmede yeterli olduğu bilinmektedir (102).

Ülkemizdeki diyaliz hastalarının verileri Türk Nefroloji Derneği tarafından derlenmektedir. Bu derneğin Türkiye'deki diyaliz ünitelerinin tamamının sonuçlarının kaydedildiği 2013 yılı sonu verilerine göre, ülkemizde hemodiyalize giren hasta sayısı 52675'dir. 2014 yılında Türk Nefroloji Derneği ve Sağlık Bakanlığının hazırlamış oldukları ortak raporda hemodiyaliz hastalarında viral seroloji profillerine bakıldığı zaman HBsAg pozitifliği % 4.01, anti – HCV pozitifliği % 6.94, HBsAg ve anti – HCV birlikte pozitifliği % 0.70 olup seronegatif (HBsAg negatif , anti- HCV negatif) hasta oranı % 88.35 olarak bildirilmiştir. (3).

Hemodiyaliz olgularında HBsAg ve anti – HCV pozitifliği çoğunlukla inaktif taşıyıcılık şeklindedir. Bu grup hastalarda kronik hepatitin ortaya çıkma süresi dolmadan hastaların çoğu ölmektedir. Türk Nefroloji Derneği kayıtlarına göre hemodiyaliz hastalarının ölüm nedenlerine bakıldığı zaman kardiyovasküler nedenler %53.45 oran ile ilk sırada olup karaciğer yetmezliği

nedeni ile ölüm oranı %2.01'dir. Ülkemiz genelinde hemodiyaliz uygulanmakta olan hastalar hemodiyalize %82,9 AVF'den girmektedirler. Hastaların %90,9'una haftada üç kez , %7,6'sına ise haftada iki kez hemodiyaliz uygulanmaktadır(3). Bizim çalışmamızda da Türkiye verilerine benzer şekilde hastalarımızın %85'i AVF'den hemodiyalize girmektedirler.

Hemodiyaliz hastalarında HBsAg pozitifliği giderek azalmasına rağmen, PZR temelli HBV –DNA testleri ile HBsAg negatif olduğu halde hastalarda HBV viremi (gizli HBV) olduğu gösterilmiştir. Ülkemizde farklı hasta gruplarında veya kan donörlerinde yapılan çalışmalarda gizli HBV enfeksiyonu prevalansı % 0 - 36,4 olarak bildirilmiştir. Çalışma gruplarına göre belirtecek olursak anti – HCV pozitif hemodiyaliz hastalarında %0 – 36,4 , anti –HCV negatif hemodiyaliz hastalarında %7, HBV ön tanısı ile değerlendirilen hasta gruplarında ise HBsAg negatif olarak bulunan hastalar içinde %3,4 – 19 oranında olduğu bildirilmiştir (76). Türkiye'de gizli HBV enfeksiyonu varlığının çeşitli hasta gruplarında prevalansı ve klinik önemi hakkında çalışmalar giderek artmakta iken gizli HCV enfeksiyonunun varlığının araştırılması yönünde yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Biz bu çalışmada rutin aylık ALT tetkiklerine göre viral hepatit açısından takip edilen hemodiyaliz hastalarında, ALT aktivitesi normal olanlarda, gizli HBV enfeksiyonu ve gizli HCV enfeksiyonu varlığını gerçek zamanlı - PZR ile araştırdık. Çalışmamızda serumda gerçek zamanlı - PZR yöntemi ile gizli HBV enfeksiyonu oranı %4 oranında bulunmuştur. Ancak serumda ve PKMNH'de gerçek zamanlı – PZR yöntemi ile gizli HCV enfeksiyonu saptanmamıştır.

Mısır'da Helaly ve ark. yapmış olduğu araştırmada HBsAg negatif 100 hemodiyaliz hastasında %34 anti – HCV pozitifliği, % 48 anti – HBc IgG pozitifliği mevcut olup %32 gizli HBV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Gizli HBV enfeksiyonu tespit ettikleri hastalarda hepsinde anti – HBc IgG pozitifliği olduğunu görmüşlerdir. Bu nedenle anti – HBc IgG pozitifliği olması halinde hastaların olası gizli HBV enfeksiyonu yönünden moleküler yöntemler ile araştırılmasını önermektedirler (144). Bununla birlikte HBsAg negatif

hemodiyaliz hastalarında HBV – DNA pozitifliğinin çok düşük oranlarda bildirildiği çalışmalar da rapor edilmiştir.

Sowole ve arkadaşlarının Londra’da farklı etnik kökenlerden oluşan 793 hastayı kapsayan araştırmasında %2 HBsAg pozitifliği, % 42 hastada aşı cevaplı anti – HBs pozitifliği , % 3 hastada izole anti – HBc pozitifliği , %17’sinde geçirilmiş HBV enfeksiyonu olup % 36 HBV ile karşılaşmamış olarak tespit edilmiştir. Tüm hasta grubu içinde sadece 3 (%0,4) hastada gizli HBV enfeksiyonu gözlenmiştir ve hastalardan üçünde de anti –HBc IgG pozitifliği var iken bir hastada anti – HBs pozitifliği de mevcuttur. Gizli HBV enfeksiyonu oranı az olmasına rağmen nozokomiyal enfeksiyon oluşumuna neden olabileceği için aşılama önem verilmeli ve sıkı enfeksiyon kontrol önlemlerine uyulmalıdır (145). Fabrizi ve ark. 213 hemodiyaliz hastasını inceledikleri çok merkezli bir çalışmada hastaların hiçbirinde (%0) gizli HBV enfeksiyonu bulamamışlardır(146). Benzer bir çalışma İran’da Joukar ve arkadaşları hemodiyaliz hastalarında gizli HBV enfeksiyonu araştırmışlardır ve 507 hastanın hiçbirinde gizli HBV enfeksiyonu bulamamışlardır (147).

Bizim hemodiyaliz hastalarımızda saptadığımız gizli HBV oranı (%4) ülkemizde var olan literatürdeki sonuçlar ile benzer oranlardadır.Yapılan tez çalışmaları ile Avcı, gizli HBV enfeksiyonu oranını 160 hemodiyaliz hastasında 18 (%11,3) bulurken , Doğukan, ise 77 hemodiyaliz hastasında % 2,6 olarak bildirmişlerdir (14,148). Kullanılan tekniğin duyarlılığı, hasta gruplarının büyüklüğü ve virolojik özellikler, oranlardaki bu farklılıklara neden olabilmektedir. Bunun dışında, çalışılan bölgede ki insan popülasyonunun HBV sıklığı bu farklılıkta rol oynayabilir. Çünkü gizli HBV enfeksiyonu prevalansında coğrafik değişikliklerin de etkili olduğu dolayısı ile HBV enfeksiyonunun endemisitesi ile de yakın ilişkili olduğu bilinmektedir (67).

Gizli HBV enfeksiyonu ile ilişkisi araştırılan önemli durumlardan biri anti – HBc pozitifliğidir. HBsAg’yi nötralize eden ve HBsAg’nin temizlenmesinden sonra ortaya çıkan anti – HBs, HBV enfeksiyonunun geçirilmesinden yıllar sonra

kaybolabilmekte ve anti – HBc, geçirilmiş HBV enfeksiyonunu gösteren tek belirteç olarak kalabilmektedir. İzole anti – HBc (HBsAg negatif hastada anti – HBc pozitifliği) varlığının klinik önemi üremik olmayan hastalarda olduğu gibi diyaliz hastalarında da tam olarak bilinmemektedir. Bazı raporlarda anti – HBc pozitifliğinin enfeksiyöz bir potansiyele sahip olduğu ileri sürülmüştür(149). Yakaryılmaz ve ark. 188 HD hastasında anti – HBc pozitifliğini % 44,7 , izole anti –HBc pozitifliğini %6,4 olarak bulmuşlar ve izole anti – HBc pozitifliğinin gizli hepatit B olanlarda daha yüksek olduğunu bildirmiştir (150). Ramezani ve arkadaşlarının hemodiyaliz uygulanmakta olan hastalarda izole anti – HBc IgG ve gizli HBV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi açıklamak için yapmış olduğu çalışmada %2 izole anti – HBc IgG pozitifliği ve %1 gizli HBV enfeksiyonu saptamışlardır. Bu durumun ülkelerinde aşıya önem verilmiş olmasının sürveyans sisteminin düzenli işleyişinin bir göstergesi olabileceğini savunmuşlardır (151). Bizim sonuçlarımıza göre hemodiyaliz hastalarının %27'sinde anti – HBc IgG pozitifliği tespit edilmiş olup izole anti – HBc olgusuna rastlanmamıştır. Gizli HBV enfeksiyonu olarak tanımladığımız hastaların hiçbirinde anti –HBc IgG pozitifliği saptanmamıştır.

Brezilya'da Fontenele ve ark.yapmış olduğu araştırmada hemodiyaliz uygulanmakta olan 301 kronik böbrek yetmezliği hastasının %79'unda anti – HBs pozitifliği var iken izole anti –HBs pozitifliğini sadece %35 hastada saptamışlardır. İzole anti – HBs pozitifliği olan üç hastada gizli HBV enfeksiyonu saptamışlardır (152). Bizim hastalarımızın ise %95'inde anti –HBs pozitifliği mevcut olup %68'inde izole anti – HBs pozitifliği gözlenmiştir. Gizli HBV enfeksiyonu olarak tanımladığımız dört hastada izole anti –HBs pozitifliği mevcut idi. Genel bilgi olarak antijenleri negatifleşmiş, anti –HBs ve anti –HBc antikoru oluşmuş kişilerde enfeksiyonun sona erdiği düşünülmektedir. Ancak çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bu bilgiyi desteklememektedir. Anti - HBs'nin pozitif olması her zaman iyileşme anlamına gelmemektedir. Nadiren de olsa HBsAg negatif ve anti – HBs pozitif olan hastalarda HBV – DNA varlığı gösterilmiştir (153,154). Nedeni tam olarak bilinmemekle beraber ,gizli HBV enfeksiyonu olan hemodiyaliz hastalarında anti – HBs'nin varlığı , HBV'nin

yetersiz nötralizasyonunu ve rutin serolojik profilin HBV enfeksiyonunun durumunu tanımlamada her zaman için tek başına yeterli sonuç veremeyeceğini düşündürmektedir.

Anti – HBs pozitifliğinin ise gizli HBV enfeksiyonu prevalansını arttırdığını belirten bir çalışma yoktur. Silva ve arkadaşlarının Brezilya’da, kan vericilerinde yaptığı bir çalışmada HBV – DNA pozitifliği ile anti – HBs pozitifliği arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Anti – HBs pozitif olan 86 hastanın 3’ünde ve negatif olan 64 hastanın 2’sinde HBV – DNA pozitifliği görülmüştür ve iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (155). Chaudri ve arkadaşlarının Hindistan’da 30.853 kan vericisinde yaptıkları çalışmada anti – HBs ve anti – HBc pozitifliği olanlarda %27,2, izole anti – HBc pozitifliği olanlarda ise %20,8 oranında HBV – DNA tespit etmişlerdir (156). Ülkemizde ise benzer bir çalışma Afyon ve arkadaşları tarafından 1063 kan bağışçısında yapılmış olup %7.15’inde anti – HBs ve anti – HBc IgG pozitifliği ,% 1.03’ünde ise izole anti – HBc IgG pozitifliği saptanmış ancak olguların hiçbirinde HBV – DNA tespit edilmemiştir (157).

ALT hepatosit hasarını gösteren önemli belirteçlerden biridir. Karaciğer parankimindeki enflamatuvar aktiviteyi yansıttığı için karaciğer hastalığının tanı ve takibinde, tedaviye cevap yönetiminde yardımcıdır. CDC, HCV enfeksiyonu için kronik hemodiyaliz hastalarının aylık kontroller ile alanin aminotransferaz (ALT) aktivitesi ölçülerek taranmasını önermektedir(77). Ancak hemodiyaliz hastalarında ALT düzeylerinin sıklıkla sağlıklı kişilerdekinden daha düşük olduğu da bilinmektedir (73). Bu durum hemodiyaliz hastalarında karaciğer hastalıklarının tanısı, takibini ve gerektiğinde tedavi yönetimini olumsuz yönde etkilemektedir (158).

Hemodiyaliz uygulanan hastalarda serum aminotransferaz seviyelerinin daha düşük olmasının nedenleri, hemodilüsyon, piridoksin eksikliği, hiperhomosisteinemi olarak gösterilmiştir. Bunlara ek olarak viral hepatiti olan hemodiyaliz hastalarında HGF (hepatosit growth factor) yüksekliği, CD69(+) lenfosit aktivasyonu, IFN – α üretiminin artması olarak sayabiliriz(159).

Yakaryılmaz ve ark. yaptıkları çalışmada HBV viremisi olan ve olmayan hastaları karşılaştırdıklarında AST ve ALT düzeylerinin benzer olduğu görülmüştür (150). Bizim çalışmamızda tüm hastaların ALT seviyeleri normal sınırlar içinde olup ortalaması $10,5 \pm 7,3$ idi. Çalışmamızda da görüldüğü üzere hemodiyaliz hastalarında ALT seviyelerinin düşük olması nedeniyle kronik hepatit tanısında ALT duyarlılık ve özgüllüğünü arttıracak şekilde yeni eşik değerin oluşturulmasını sağlayacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.

Serum aminotransferazların seviyesinin düşük olmasının olası bir nedeni de diyaliz işlemi esnasında vireminin azalması olabilir. Fabrizi ve ark., kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda yapmış olduğu iki farklı çalışmada diyaliz öncesi ve sonrası HBV - DNA ölçümü yapmışlardır. HBV – DNA kopya sayısının hemodiyaliz işlemi öncesinde çok daha yüksek olduğu gözlenmiştir (160,161). Benzer bir çalışma kronik HCV enfeksiyonu olan 11 hemodiyaliz hastasında yapıldığı zaman Baedalomnti ve ark., hemodiyaliz öncesi ve hemen sonrası , 24 saat ve 48 saat sonrası viremiyi değerlendirmişlerdir. HCV – RNA seviyesinin tüm hastalarda hemodiyaliz işlemi ile azaldığını ancak hemodiyalizden 48 saat sonrası yeniden eski seviyesine ulaştığını göstermişlerdir (159). Hemodiyaliz işlemi esnasında vireminin azalmasını ve karaciğer hasarının daha az olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Trevisoli ve ark., yapmış olduğu araştırmada 36 HCV ile enfekte hemodiyaliz hastasında daha düşük seviyede viral yük ve ALT aktivitesini, histolojik olarak hepatik fibrozun anlamlı derecede daha az olduğunu göstermiştir. Bu düşük biyokimyasal ve enflamatuvar aktivite hemodiyaliz uygulamasının koruyucu bir role sahip olabileceğini göstermektedir(180).

Gizli HBV enfeksiyonunun klinik sonuçları ile ilgili olarak organ nakli yapılan hastalarda da önemli çalışmalar yapılmaktadır. Hemodiyaliz hastalarının her biri böbrek nakli için aday hastalardır. Solid organ transplantasyonu öncesi alıcıların olası hepatit açısından serolojik testler (HBsAg, Anti – HBs, Anti – HBc IgM, IgG veya total, anti –HCV) ile taramalarının yapılması önerilmektedir(163).

Transplantasyon öncesi ve sonrası immunsupresif tedavi alan hemodiyaliz hastalarında inaktif olan HBV ve HCV aktifleşmekte ve hastalarda fulminan tablo izlenebilmektedir. Solid organ transplantasyonu öncesi uygun yöntemler ile tarama, nakil başarısını arttıracaktır (162). Bu nedenle günümüzde, bu hastalarda moleküler yöntemler ile HBV – DNA araştırılması açısından değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

HBV' ye karşı birinci jenerasyon – plazma kökenli aşılardan kullanıldığı zaman alınan yetersiz yanıt, rekombinant DNA aşılılarıyla da düzelmemiştir. Yeterli yanıt sağlayabilmek için, aşılama sırasında antijen dozunu artırmak, enjeksiyon sayısını artırmak veya beraberinde immünstimulanlar kullanmak gibi çeşitli yöntemler denenmiştir. Bu protokoller ile hepatit B aşısına %80'in üzerinde yanıt oranı ve anti – HBs titrelerinde artış sağlanmıştır (164). Hastalarımızın %55'inde en az üç doz aşılama öyküsü mevcut olup verilere ulaşmadaki yetersizlikler nedeni ile diğer hastaların aşılama verilerine ulaşamadı. Yen ve ark. HBsAg negatif , 3 doz hepatit B aşısı sonrası Anti – HBs < 10 mIU/ml 250 kişide aşı yanıtı olmayanların özellikle anti –HBc pozitif olanlarda olduğunu görmüşler ve aşı yanıtı olmayanların 23'ünün % 78,6'sında gizli HBV enfeksiyonu tespit etmişlerdir (165). Bizim çalışmamızda ise anti – HBc IgG pozitifliği olan hastalarımızın anti – HBs titre düzeyleri ortancası 101 mIU/ml (12 – 803 mIU/ml) ile tüm hastalarımızın ortancası ile benzer olup (104,5 mIU/ml (0 – 1000 mIU/ml)) aşı yanıtı var idi. Aghasadeghi ve ark.'nın araştırmasında ise hepatit B aşısına yanıtı olmayan 52 kişiden %3,8'inde izole anti – HBc tespit etmişler ancak gizli HBV enfeksiyonu tespit edememişlerdir (166).

Amerikan Hastalıkları Önleme Merkezi'nin (CDC) 2001 yılında yayınlamış olduğu öneriler doğrultusunda olası yeni HCV enfeksiyonunun tanınması için hemodiyaliz ünitelerinde rutin olarak hastaların aylık ALT ve GGT aktivitesi ve yılda iki defa anti – HCV antikoru serolojik testi yapılmaktadır (77). Ayrıca kronik böbrek hastalığı klinik uygulama kılavuzunda HCV prevalansının yüksek olduğu hemodiyaliz ünitelerinde başlangıç testi olarak nükleik asit testlerinin kullanımı önerilmektedir (167).

HCV enfeksiyonunun tanısı, ELISA yöntemiyle anti –HCV'nin gösterilmesine dayansa da yalancı negatiflik veya pozitiflik gibi durumların netleştirilmesinde ve tedavinin planlanması , takibi için viremiyi kantitatif olarak belirleyen HCV – RNA testi bugün için altın standarttır. Ancak HCV – RNA'nın izlediği dalgalı seyir nedeni ile enfeksiyonun klinik yönetimi boyunca belli aralıklarla takibi gerekmektedir (79,168).

HCV enfeksiyonu varlığında hastaların %90'dan fazlasında anti – HCV pozitifdir. Ancak anti – HCV negatif olsa da HCV – RNA pozitifliği saptanabilir. İlk olarak 1993 yılında Bukh ve arkadaşları anti – HCV antikoru yokluğunda gelişen HCV viremisinden bahsetmişlerdir (181). 43 diyaliz merkezinin katıldığı 2796 hastanın değerlendirildiği geniş kapsamlı bir araştırmada toplam HCV prevalansını %7 (195 hasta) oranında bulmuşlardır. Anti – HCV pozitifliği %6,1 (171 hasta) iken viremi %4 (111 hasta) tespit edilmiş. Viremi tespit edilen 111 hastanın 24'ünde (%21,6'ında) anti – HCV antikoru negatif bulunmuştur (169). Bazı otörler diyaliz hastalarında HCV – RNA testinin rutin olarak çalışılmasını önermektedir, ancak bu önemli bir maliyeti de beraberinde getirmektedir. Dağlar ve arkadaşlarının hemodiyaliz hastalarında yapmış olduğu araştırmada 201 hastanın %18,4'ünde anti – HCV pozitifliği ve % 12 HCV – RNA pozitifliği saptamışlardır. HCV – RNA saptanan hastalardan üçünde (%12,5) anti – HCV'nin negatif olduğu gözlenmiştir(97). Ancak ülkemizde yapılan HCV ön tanılı/tanıli başka bir çalışmada ise 1000 hastadan % 91,2'inde anti – HCV pozitif olup % 52,7'sinde HCV – RNA pozitif bulunmuştur ancak anti – HCV negatif ,HCV –RNA pozitif olguya rastlanmamıştır(170). Bizim çalışmamızda da hastalarımızın hepsi anti – HCV antikoru negatif olup serumda HCV – RNA negatif idi.

HCV'nin karaciğer dışı alanlarda da replike olduğu ve gizli HCV enfeksiyonuna neden olduğu artık kabul gören bir yaklaşımdır. İlk olarak 2004 yılında Castillo ve arkadaşları tarafından tanımlanan gizli hepatit c virus enfeksiyonu ; serum anti – HCV ve HCV – RNA negatif iken karaciğer

hücrelerinde HCV – RNA tespit edilmesi şeklindedir (6). Castillo ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada karaciğer fonksiyon testleri yüksek 100 hastanın serumunda anti – HCV ve HCV - RNA negatif iken , karaciğer biyopsi materyalinde %57 oranında HCV – RNA tespit edilmiştir. Hastaların %70'inde PKMNH'de viral RNA tespit edilmiştir. Carreno ve ark. ise serum ALT seviyeleri normal anti – HCV'si pozitif ancak HCV – RNA'sı negatif olan 12 hastadan 10'unda karaciğer biyopsi materyalinde genomik ve anti – genomik HCV – RNA elde etmişlerdir(136).

Barril ve ark. anormal ALT aktivitesi (ortalama ALT $25,7 \pm 15,1$ IU/L) olan 109 anti – HCV negatif hemodiyaliz hastasının 49'unda (%45) PKMNH'de genomik HCV – RNA varlığını 'strand spesifik RT – PCR' ile göstermiş olup replike olduğunu kanıtlamışlardır (5).Klinik, virolojik ve histolojik olarak gizli HCV ve kronik HCV enfeksiyonunun karşılaştırıldığı bir araştırmada ise 68 gizli HCV enfeksiyonu ve 69 tedavi edilmemiş kronik HCV enfeksiyonu olan hastalar değerlendirmişlerdir. Gizli HCV enfeksiyonu olan hastalarda GGT yüksekliğinin ön planda iken , kronik HCV enfeksiyonunda ise aminotransferazların yüksekliğinin ön planda olduğunu, kronik HCV enfeksiyonunda enfekte hepatosit sayısının iki kat daha fazla olduğunu, nekroenflamatuvar aktivite ile fibrozis arasındaki korelasyonun kronik HCV'de daha belirgin olduğunu vurgulamaktadır. Gizli HCV enfeksiyonu daha selim ilerlese de % 4.4 hastada karaciğer sirozu gözlenmiştir (171).

Gizli HCV enfeksiyonu varlığı ile ilgili çeşitli hasta gruplarında prevalansı ve klinik önemi hakkında dünyada yaygın araştırmalar mevcuttur. Lenfoproliferatif hastalıkları olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalara bakacak olduğumuz zaman İran'da ve Mısır'da yapılan çalışmalar sonucu ortaya çıkan prevalans , bu hastalıklar ile gizli HCV enfeksiyonu birlikteliği İran'da %1,9 iken Mısır'da bu oran %20 olarak bulunmuştur (172,173). HCV ile glomerülonefrit arasındaki ilişki gayet iyi bilinmektedir. Ancak gizli HCV enfeksiyonunda immün ilişkili glomerülonefrit ile olan ilişkisi henüz bilinmemektedir. Castillo ve arkadaşları anti – HCV negatif olan 87 immün aracılı ve 26 herediter

glomerülonefritli hastada PKMNH'de veya serum ultrasantrifügasyonu sonrasında HCV – RNA aramışlardır. 87 immün aracılı glomerülonefriti olan hastanın 34'ünde, 26 herediter glomerülonefriti olan hastanın birinde viral RNA saptamışlardır. İmmün aracılı glomerülonefritin ilerlemesinde gizli HCV enfeksiyonunun yüksek olasılıkla önemli bir role sahip olduğunu görmüşlerdir (174). İtalya'da Turin kan bankasına flebotomi tedavisi sonrası gönderilen 439 adet kan örneğinden 314 tanesi enfeksiyon etkenleri açısından seronegatif olarak bulunurken, 85'i HBV pozitif bunlardan 7 tanesi inaktif HBsAg taşıyıcı, 40'ı anti –HCV pozitif bunlardan 34'ü HCV –RNA pozitif olarak tespit edilmiş. Seronegatif olan örneklerden sadece dört tanesinde ve yedi adet inaktif HBsAg taşıyıcısından iki tanesinde PKMNH'de HCV –RNA tespit edilmiş. Altı hasta 2 yıl boyunca takip edilerek PKMNH'de viral yük kontrol edilmiştir. Ancak birinci yılsonunda sadece bir hastada viral RNA'yı viral yük azalmış olarak saptamışlardır. Bu hastaların daha uzun süreli takipler ile virus klerensini veya rekürrensini gelişip gelişmeyeceğini izlenilmesi gerektiği savunulmuştur (175). Agrawal ve ark.'nın ise Almanya'da yapmış olduğu araştırmada 417 hemodiyaliz , 417 böbrek nakilli hastada serum ve PKMNH'de HCV –RNA araştırarak gizli HCV enfeksiyonu prevalansını sorguladıklarında %0.25 olarak saptamışlardır. Almanya'da yapılan geniş kapsamlı bir araştırma olması nedeni ile gizli HCV enfeksiyonu klinik olarak anlamlı bulunmamışlardır ancak HCV'nin yüksek endemisine sahip olduğu bölgelerde ileriye dönük çalışmaların yapılmasını önermişlerdir (142).

Ülkemizde ise hemodiyaliz hastalarında gizli HCV enfeksiyonu varlığının araştırılması ile ilgili araştırma sayısı yeterli değildir. Bozkurt ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 100 hemodiyaliz hastasında 10'unda anti – HCV pozitif olup 5'inin plazma ve PKMNH'de HCV – RNA negatif iken, serum anti – HCV'si negatif olan 90 hastanın 6'sında (%6,7) plazma HCV – RNA ,3'ünde (%3,3) PKMNH'de HCV – RNA değerleri pozitif olarak tespit edilmiştir. Hem anti – HCV'si hem de HCV – RNA negatif olan 84 hastadan 3'ünde(%3,6) PKMNH'de HCV – RNA pozitif bulunmuş olup gizli HCV enfeksiyonu olarak tanımlanmıştır ve karaciğer biyopsisi yapılamadığı durumlarda ve biyopsi gibi

invaziv bir yöntem olmaması nedeni ile alternatif bir tanı yöntemi olarak önerilmiştir (176).

İtalya'da Pisaturo ve ark. immunsupresif hastalarda gizli HCV enfeksiyonu prevalansını araştırmak üzere prospektif bir çalışma yapmışlar. Anti –HCV ve HCV – RNA'ları negatif olan 60 HIV pozitif ve 32 hematolojik kanserli iki grup hastadan plazma ve PKMNH'de HCV – RNA aramışlar. HIV pozitif grupta ilk başvuru anında plazma ve PKMNH'den, daha sonra her üç ayda bir olmak üzere PKMNH'den örnekleme yapılmış, takipleri süresince 60 adet plazma ve 212 adet PKMNH örnekleme elde etmişler. Hematolojik kanserli grupta ise kemoterapi(KT) öncesi plazma ve PKMNH, KT'nin birinci ve üçüncü ayında ,KT'den sonra her üç ayda bir olmak üzere PKMNH örnekleme yapılmış , KT öncesi 32 adet , KT boyunca 72 adet ve KT'den sonra da 132 adet PKMNH elde edilmiş. Ancak elde edilen plazma ve PKMNH'den hiçbirinde HCV – RNA pozitifliği saptayamamışlardır (177). Zavareh ve ark. ise İran'da yapmış oldukları çalışmada 35 otoimmün hepatiti olan hastada gizli HCV enfeksiyonu araştırmışlar ancak hem serum ultrasantrifüjü ile hem de PKMNH'de HCV – RNA elde edememişlerdir (178). Biz de yapmış olduğumuz çalışmamızda 100 hemodiyaliz hastasının hiçbirinde PKMNH'de HCV – RNA tespit edemedik. Ülkemiz de yine Ege bölgesinde Afyon Kocatepe Üniversitesi'nde yapılmış olan bir tez çalışmasında ALT seviyesi yüksek olan 60 hemodiyaliz hastasından oluşan bir çalışma grubunda gizli HCV enfeksiyonuna rastlanmamıştır (179).

Viral Hepatitle Savaşım Derneği'nin saha çalışması verilerine göre anti – HCV pozitifliği ülkemizde bölgeler arasında küçük de olsa farklılıklar göstermektedir. Bu verilere göre İç Anadolu bölgesinde oran %0,5 iken, Ege bölgesinde %0,1'dir. Marmara bölgesinde ise anti – HCV pozitifliği İç Anadolu bölgesine benzer şekilde %0,5'dir(15). Bölgeler arasında gözlenen bu farklılığın gizli HCV enfeksiyonu prevalansını da etkileyebileceğini düşünmekteyiz.

HBV'nin enfektivitesi HCV ile kıyaslanamayacak derecede fazladır. Bu nedenle HBV seropozitif hastaların makinelerinin ayrılması hemen hemen tüm merkezler tarafından kabul görmektedir. Gerek bu önlemlerin gerekse HBV'ye karşı aşılamanın yaygınlaşması ile HBV sorunu günümüzde oldukça azalmıştır. HCV seropozitifliğinde de sıkı enfeksiyon kontrol önlemlerine uyum ile kısmen düşmeler olmakla birlikte hala sorun önemini korumaktadır (77). Diyalizata geçmiş olan viral RNA partiküllerinin varlığı onun enfektivitesini göstermeyeceği için CDC yeniden kullanım (reuse) işlemine izin vermiştir (77).

Sonuç olarak çalışmamızda seronegatif hemodiyaliz hastalarında % 4 oranında gizli HBV enfeksiyonu saptamış olup aynı zamanda gizli HCV enfeksiyonu saptayamadık. Bu hastaların bulaştırıcılık özellikleri de göz önüne alındığında , HBV negatif hastalara diyaliz yoluyla virüsün bulaştırılması kaçınılmaz görülmektedir. Kronik böbrek yetmezliği nedeni ile hayat kalitesi belirgin düzeyde düşmüş olan bu hastalarda morbidite ve mortaliteyi olumsuz yönde etkileyecek önemli bir risk faktörüdür. Gizli HBV enfeksiyonunda anahtar tanısal yöntemimiz HBV – DNA'nın saptanması olduğu için kullanılan teknik ve yöntemin standardize edilmesi esastır. Diyaliz ünitelerinde takipleri boyunca hastaların yılda bir kez PZR tabanlı bir yöntem ile viral DNA inceleme yapılması organ transplantasyonu için beklenen sırada oluşabilecek sorunların engellenmesinde faydalı olabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Çalışmaya serolojik negatif, ALT seviyeleri normal sınırlar içinde 100 hasta dahil edildi.
- Çalışmaya alınan hastaların %27'sinde anti – HBc IgG pozitifliği saptandı ancak izole anti – HBc IgG pozitifliği saptanmamıştır.
- %4 hastada gizli HBV enfeksiyonu tespit edildi.
- Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastaların hiçbirinde anti – HBc IgG pozitifliği olmayıp izole anti –HBs pozitifliği mevcuttu.
- Anti – HBs pozitif serumlarda da HBV – DNA'nın tespit edilebilmesi nedeni ile HBV bulaştırıcılığı göz önünde bulundurularak HBV – DNA'nın araştırılması gerektiği sonucuna varıldı. Gizli HBV enfeksiyonunun tanısında altın standart HBV – DNA'nın tespiti olduğu için en duyarlı yöntemin kullanılması gerekmektedir. En etkili yol tüm hastalarda PZR ile HBV – DNA tayini yapılmasıdır.
- Hastalarımızın hiçbirinde gizli HCV enfeksiyonu saptanmadı. Ancak hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun sessiz seyirli olabileceği göz önünde bulundurularak PKMNH'de HCV – RNA araştırılması tanıda yardımcı olabilecek ve kaynak kontrolünü sağlayabilecek bir yöntemdir.

7. KAYNAKLAR

1. AYGEN,B. (2001). Özel hasta gruplarında infeksiyon kontrolü: hemodiyaliz hastalarında infeksiyon kontrolü. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*. 5: 247 – 285.
2. ÇİFTÇİBAŞI ÖRMECİ, A., KARACA, Ç. Viral Hepatitler ve Kronik Böbrek Yetersizliği. *Viral Hepatit 2013 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., TOSUN, S. Bölüm 35.
3. SÜLEYMANLAR, G., ALTIPARMAK, M.R., SEYAHİ, N., TRABULUS, S. (2014). *Türkiye’de Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Registry 2013*. Ankara. Türk Nefroloji Derneği Yayını.
4. ERGÜNAY, K. (2005). Gizli (okült) hepatit B enfeksiyonu. *Mikrobiyoloji Bülteni*. 39: 241 – 249
5. BARRIL, G., CASILLO, I., ARENAS, M.D., ESPINOSA,M., GARCIA – VALDELASAS, J., GARCIA – FERNANDEZ, N., GONZALEZ – PARRA, E., ALCAZAR, J.M., SANHAZ,C., DIEZ – BAYLON, J.C., MARTINEZ, P., BARTOLOME, J., CARRENO, V. (2008). Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 19: 2288 – 2292.
6. CASTILLO, I., PARDO, M., BARTOLOME, J., ORTIZ – MOVILLA, N., RODRÍGUEZ – INIGO, E., LUCAS, S., SALAS, C., JIMENEZ – HEFFERNAN, J.A., PEREZ – MOTA, A., GRAUS, J., LOPEZ – ALCOROCHO, J.M., CARRENO, V. (2004). Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *The Journal of Infectious Disease*. 189: 7 – 14.
7. OCANA, S., CASAS, M.L., BUGIHAS, I., LLEDO, J.L. (2011). Diagnostic strategy for occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 17(12): 1553 – 1557.
8. CARRENO,V. (2006). Occult hepatitis C virus infection: a new form of hepatitis c. . *World J Gastroenterol*. 12(43): 6922 – 6925.
9. KAYGUSUZ, S. (2004). Kronik böbrek yetmezliği ve viral hepatitler. *Klimik Dergisi* 17 (2): 72 – 81.
10. ÖZACAR, T. Hepatit B Virusu. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*.Cilt - 2 WİLKE, A., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (2007). 3.baskı. Ankara. Nobel

Tıp Kitapevleri. s.: 1882 – 1904.

11. USTAÇELEBİ,Ş., ERGÜNAY, K. Hepatit b virusunun (HBV) moleküler virolojisi. *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.:96 – 107.

12. HORVAT, R.T., TEGMEIER, G.E. Hepatit B ve D virusleri. *Klinik Mikrobiyoloji*. Cilt – 2, Ed. MURRAY, R.P., BARON, E.J., JORGENSEN, J.H., LANDRY, M.L., PFALLER, M.A. (2009). Ankara. Atlas kitapçılık. s.: 1641 – 1659

13. EROĞLU, C. Hepatit B virus enfeksiyonlarının hücre kültürü ve hayvan modelleri. *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.:160 – 177.

14. DOĞUKAN, M. (2007). Hemodiyaliz , periton diyalizi ve prediyaliz hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonunun polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile araştırılması. Tıpta Uzmanlık tezi. Fırat Üniv. Tıp Fakültesi.

15. TOSUN, S. Türkiye’de viral hepatit B epidemiyolojisi yayınlarının metaanalizi. *Viral Hepatit 2013 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., TOSUN, S. Bölüm 3.

16. SHI, Y.H. (2012). Correlation between hepatitis B virus genotypes and clinical outcomes. *Jpn. J. Infect. Dis.* 65: 476 – 482.

17. LEMON, S.M., THOMAS, D.L. (1997). Vaccines to prevent viral hepatitis. *N Engl J Med.* 336: 196 – 204.

18. AKÇALI, S., ŞANLIDAĞ, T., BİÇMEN, C., ÖZBAKKALOĞLU, B., AKDUMAN ALAŞEHİR, E. (2013). Kronik hepatit B hastalarında prekor/kor mutantlarının sıklığı. *İzmir Dr.Behçet Uz Çocuk Hast. Derg.* 3(2): 110 – 116.

19. EYİGÜN,C.P. Hepatit b virüsü mutasyonlarının klinik önemi ve tedaviye etkileri. *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.:136 – 147.

20. ÇELİK,E. (2011). Direnç mutasyonları gösteren HBV mutantlarının belirlenmesi ve bu mutantların çeşitli antivirallere karşı direnç profilinin in vitro fenotipleme yöntemi ile karakterizasyonu. Yüksek Lisans tezi. Ankara Üniv. Biyoteknoloji Enstitüsü.

21. SHELDON, J., RODES, B., ZOULIM, F., BARTHOLOMEUZS, A. (2006).

Mutations affecting the replication capacity of the hepatitis B virus. *J Viral Hepat.* 13: 427-34.

22. CARMAN, W.F. (1997). The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. Review. *J Viral Hepat.* 4(1):11-20.

23. UCHIDA, T., SAITOH, T., SHINZAWA, H. (1997). Mutations of the X region of hepatitis B virus and their clinical implications. *Pathol Int.* 47(4):183-93.

24. THIO, C.L., HAWKINS, C. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* BENNETT, J.E., DOLIN,R., BLASER,M.J. (2015). 8nd Ed. Canada. Chapter 148.

25. ÖZDEMİR,D., KURT,H. Hepatit B virusu enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. *Viral Hepatit 2007 (1.baskı).*İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.:108 – 117 .

26. AKARCA,S.U. (2008). Chronic hepatitis B a guideline to diagnosis, approach, management, and follow-up 2007 turkish association for the study of liver. *Turk J Gastroenterol.* 19(4): 207 – 230.

27. TOSUN, S. (2013). Viral hepatitlerin ülkemizdeki değişen epidemiyolojisi. *ANKEM Derg.* 27(ek 2): 128 – 134.

28.KURTARAN,B. Hepatit virüslerinin bulaşma yolları. *Viral Hepatit 2013 (1.baskı).*İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., TOSUN, S. Bölüm 6

29. GENTILE, I., BORGIA, G. (2014). Vertical transmission of hepatitis B virus:challenges and solutions. *International Journal of Women's Health.* 6: 605 – 611.

30. XU, D.Z., YAN,Y.P., ZOU,S., CHOI, B.C.K., WANG, S., LIU, P., BAI, G., WANG, X., SHI, M., WANG,X. (2001). Role of placental tissues in the intrauterine transmission of hepatitis B virus. *Am J Obstet Gynecol.* 185:981 – 987.

31. ALTER, M.J. (2003). Epidemiology of hepatitis b in europe and worldwide. *Journal of Hepatology.* 39: 64 – 69.

32. PAPANICOLAOU, G., BUTI,M., CORNBERG, M., JANSSEN,H.,

- MUTIMER, D., POL, S., RAIMONDO, G. (2012). EASL Clinical Practice Guidelines: :management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*. 57: 167 – 185.
- 33.** BADUR, S. Hepatit A, B ve D virusleri. *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. (2012). Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi. US, A.D., ERGÜNAY, K. s.: 304 – 325.
- 34.** KANTARÇEKEN, B. Kronik hepatit b doğal seyir. *Viral Hepatit 2009 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., s.: 1 – 22.
- 35.** TÜNGER, Ö., TÜNGER, A. *Enfeksiyon Hastalıkları El Kitabı*. 2007. Ankara. HYB Basım Yayın. Bölüm :10.
- 36.** SIRMATEL,F., SIRMATEL, Ö., HOCAOĞLU, S., DAĞLI, Ö. (2003). Akut fülminan hepatit B tedavisinde lamivudin: iki olgu sunumu. *Klinik Dergisi*. 16(1): 38 – 40.
- 37.** MALİK, A., SINGHAL, D.K., ALBANYAN, A., HUSAIN, S.A., KAR, P. (2012). Hepatitis B virus gene mutations in liver diseases: a report from New Delhi. *Plos One*. 7(6) : e39028.
- 38.** YENEN,O.Ş.Akut Viral Hepatitler . *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*.Cilt - 1 WİLKE, A., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (2007). 3.baskı. Ankara. Nobel Tıp Kitapevleri. s.:1148 – 1189.
- 39.**BALIK,İ., TUNCER ERTEM, G. Kronik Hepatitler. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*.Cilt - 1 WİLKE, A., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (2007). 3.baskı. Ankara. Nobel Tıp Kitapevleri. s.: 1189 – 1205.
- 40.** SOUZA, L.A., MATTOS, A.A., FIORINI, M., RIBEIRO, P., TOVO, C.T. (2013). Clinical outcome of a patitent cohort with acute hepatitis b.DOI: 10.6061/clinics/2013(05)21.
- 41.** LOK, A. S. F., MCMAHON, B. J. (2009). AASLD practice guideline update chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*. 50(3).
- 42.** POLLICINO, T., CACCIOLA, I., SAFFIOTI, F., RAIMONDO, G. (2014). Hepatitis B virus preS/S gene variants: pathobiology and clinical implications. *Journal of Hepatology* . 61: 408 – 417.
- 43.** TAŞYARAN, M.A. Hepatit B Virüsü Enfeksiyonunda Klinik. *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ.,

TEKELİ, E. s.: 118 – 122.

44. GERLICH, W.H. (2013). Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology Journal*. 10:239.

45. AKDOĞAN, M. Viral Hepatitler ve Hepatosellüler kanser . *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.: 390 – 401.

46. ÖZSAN, M. HBV Enfeksiyonunda Mikrobiyolojik Tanı . *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.: 124 – 134.

47. ÖZKAN, H. Kronik Hepatit B İnfeksiyonunda Fazlar ve HBsAg Kuantifikasyonunun Önemi. *Viral Hepatit 2013 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., TOSUN, S. Bölüm 17.

48. LEE, J.M., AHN, S.H. (2011). Quantification of HBsAg: basic virology for clinical practice. *World J Gastroenterol*. 17(3): 283 – 289.

49. DATTA, S., CHATTERJEE, S., VEER, V. (2014). Recent advances in molecular diagnostics of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol*. 20(40): 14615 – 14625.

50. PINAR, A. (2012). PCR VE Real Time – PCR hakkında genel bilgi. Ankara Mikrobiyoloji Derneği Real Time PCR kurs kitapçığı.

51. VALSAMAKIS, A. (2007). Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis b. *Clinical Microbiology Reviews*. 20(3): 426 – 439.

52. ALAVIAN, S.M., MIRI, S.M., HOLLINGER, F.B., JAZAYERI, S.M. (2012). Occult hepatitis b (OHB) in clinical settings. *Hepat Mon*. 12(8): e6126.

53. ALTINDİŞ, M., USLAN, İ., ÇETİNKAYA, Z., YÜKSEL, Ş., ÇİFTÇİ, İ.H., DEMİRTÜRK, N., ÖZDEMİR, M., ARSLAN, F., AKTEPE, O.C. (2007). Hemodiyaliz hastalarının gizli hepatit b varlığı yönünden araştırılması. *Mikrobiyoloji Bült*. 41: 227 – 233.

54. RAIMONDO, G., CACCAMO, G., FILOMIA, R., POLLICINO, T. (2013). Occult HBV infection. *Semin Immunopathol*. 35: 39 – 52.

55. SAMAL, J., KANDPAL, M., VIVEKANANDAN, P. (2012). Molecular mechanisms underlying occult hepatitis b virus infection. *Clinical Microbiology*

Reviews. 25(1): 142 – 163.

56. CABRERIZO,M., BARTOLOME,J., CARAMELO, C., BARRIL, G., CARRENO,V. (2000). Molecular analysis of hepatitis b virus DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells from hepatitis b surface antigen – negative cases. *Hepatology*. 32(1):2000.

57.DINDOOST, P., CHIMEH, N., HOLLINGER, B.F., SABERFAR, E., NOROUZI,M., JAZAYERI, S.M. (2012). The pigeonhole of occult hepatitis b. *Acta Medica Iranica*. 52(8): 582 – 590.

58. TORRESÍ,J. (2002). Reduced antigenicity of the hepatitis b virus HBsAg protein arising as a consequence of sequence changes in the overlapping polymerase gene that are selected by lamivudine therapy. *Virology*. 293: 305 – 313.

59. URASHIMA,T,. (1997). Identification of hepatitis B virus integration in hepatitis C virus – infected hepatocellular carcinoma tissues. *J Hepatol*. 26: 771 – 778.

60. POLLICINO, T., SAITTA, C. (2014). Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 20(20): 5951 – 5961.

61. RODRIGUEZ-INIGO, E., BARTOLOME, J., ORTIZ- MOVILLA, N., PLATERO,C., LOPEZ-ALCOROCHO, J.M., PARDO, M., CASTILLO,I., CARRENO,V. (2005). Hepatitis C virus (HCV) and hepatitis B virus (HBV) can coinfect the same hepatocyte in the liver of patients with chronic HCV and occult HBV infection. *J Virol*. 79(24): 15578.

62. CHEN, S.Y., KAO, C.F., CHEN, C.M., SHIH, C.M., HSU, M.J., CHAO, C.H., WANG, S.H., YOU, L.R., LEE, Y.H.W. (2003). Mechanisms for inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication bay hepatitis C virus core protein. *The Journal of Biological Chemistry*. 3: 591 – 607.

63. DOMOULIN, F.L., BUSSCHE, A., KHAMZĪNA, J.L., WANDS, J.R., SAUERBACH, T., SPENGLER, U. (2003). Hepatitis C virus NS2 protein inhibits gene expression from different cellular and viral promoters in hepatic and non hepatic cell lines. *Virology* . 305: 260 – 266.

64. NOGUCHI, C., HIRAGA, N., MORI, N., TSUGE, M., IMAMURA, M.,

- TAKAHASHI, S., FUJIMOTO, Y., OCHI, H., ABE, H., MAEKAWA, T., YATSUJI, H., SHIRAKAWA, K., TAKAORI – KONDO, A., CHAYAMA, K. (2007). Dual effect of APOBEC3G on hepatitis B virus. *Journal of General Virology*. 88: 432 – 440.
- 65.** SATAKE, M., TAIRA, R., YUGI, H., HINO, S., KANEMITSU, K., IKEDA, H. (2007). Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a lookback program. *Transfusion*. 47(7): 1197 – 1205.
- 66.** KWAK, M.S., KIM, Y.J. (2014). Occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 6(12): 860 – 869.
- 67.** GUTIERREZ – GARCIA, M.L., FERNANDEZ – RODRIGUEZ, C.M., LLEDO – NAVARRO, J. L., BUHIGAS – GARCIA, I. (2011). Prevalence of occult hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 17(12): 1538 – 1542.
- 68.** SQUADRITO, G., SPINELLA, R., RAIMONDO, G. (2014). The clinical significance of occult HBV infection. *Annals of Gastroenterology*. 27: 15 – 19.
- 69.** LEVRERO, M., POLLICINO, T., PETERSEN, J., BELLONI, L., RAIMONDO, G., DANDRI, M. (2009). Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*. 51: 581 – 592.
- 70.** RAIMONDO, G., ALLAIN, J.P., BRUNETTO, M.R., BUENDIA, M.A., CHEN, D.S., COLOMBO, M., CRAXI, A., DONATO, F., FERRARI, C., GAETA, G.B., GERLICH, W.H., PAWLOTSKY, J.M., POLLICINO, T., PRATI, D., PUOTI, M., SAMUEL, D., SHOUVAL, D., SMEDILE, A., SQUADRITO, G., TREPO, C., VILLA, E., WILL, H., ZANETTI, A.R., ZOULIM, F. (2008). Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*. 49: 652 – 657.
- 71.** RAIMONDO, G., POLLICINO, T., ROMANO, L., ZANETTI, A.R. (2010). A 2010 update on occult hepatitis B infection. *Pathologie Biologie*. 58: 254 – 257.
- 72.** URBANI, S., FAGNONI, F., MISSALE, G., FRANCHINI, M. (2010). The role of anti – core antibody response in detection of occult hepatitis B virus infection. *Clin Chem Lab Med*. 48(1): 23 – 29.
- 73.** AGHAKHANI, A., BANIFAZL, M., VELAYATI, A.A., ESLAMIFAR, A., RAMEZANI, A. (2012). Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients: a concept for consideration. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. DOI : 10.1111/j.1744-9987.2012.01072.x

- 74.** MOTTA, J.S., MELLO,F.C., LAGO, B.V., PEREZ, R.M., GOMES, S.A., FIGUEIREDO, F.F. (2010). Occult hepatitis B virus infection and lamivudine resistant mutations in isolates from renal patients undergoing hemodialysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 25: 101 – 106.
- 75.** GWAK, G.Y., HUH, W., LEE, D.H., MIN, B.H., KOH, K.C., KIM, J.J., OH, H.Y. (2008). Occult hepatitis B virus infection in chronic hemodialysis patients in Korea. *Hepatogastroenterology.* 55: 1721 – 1724.
- 76.** AFYON,M., AVCI,İ.Y., ÜLÇAY,A., DİKTAŞ, H. (2013). Occult hepatit B enfeksiyonu. *J Clin Anal Med.* 4(5): 435 – 439.
- 77.** CDC. (2001). Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patitents. *MMWR.* 50: 1 – 43.
- 78.** YOO, J.H., HWANG, S.G., YANG, D.H., SON, M.S., KWON,C., KO, K.H., HONG,S.P., PARK, P.W., RIM, K.S. (2012). Prevalence of occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients. *Korean J Gastroenterol.* 61(4): 209 – 214.
- 79.** TÜRKOĞLU, S. Hepatit C virüsü – Viroloji ve seroloji . *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*.İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.: 228 – 245.
- 80.** SCHEEL, T.K.H., RICE, C.M. (2013). Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. *Nat Med.* 19(7): 837 – 849.
- 81.** SCOTT, J.D., GRETCH, D.R. Hepatit C ve G virusleri. *Klinik Mikrobiyoloji.* Cilt – 2, Ed. MURRAY, R.P., BARON, E.J., JORGENSEN, J.H., LANDRY, M.L., PFALLER, M.A. (2009). Ankara. Atlas kitapçılık. s.: 1437 – 1445 .
- 82.** ASHFAQ, U.A., JAVED, T., REHMAN, S., NAWAZ, Z., RIAZUDDIN, S. (2011). An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. *Virology Journal.* 8: 161.
- 83.** KIM, C.W., CHANG, K.M. (2013). Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clinical and Molecular Hepatology.* 19: 17 – 25.
- 84.** RAY, S.C., THOMAS, D.L. Hepatitis C. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* BENNETT, J.E., DOLİN,R., BLASER,M.J. (2015). 8nd Ed. Canada. Chapter 156.

- 85.** PENIN, F., DUBUISSON, J., REY, F.A., MORADPOUR, D., PAWLOTSKY, J.M. (2004). Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology*. 39: 5 – 19.
- 86.** AKHAN, S. Hepatit C Virusu. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Cilt - 2 WİLKE, A., SÖYLETİR, G., DOĞANAY, M. (2007). 3.baskı. Ankara. Nobel Tıp Kitapevleri. s.: 1911 – 1929.
- 87.** KUMAR -SAMRAT, S., LI, W., SINGH, S., KUMAR, R., AGRAWAL, B. (2014). Alternate reading frame protein (F protein) of hepatitis C virus: paradoxical effects of activation and apoptosis on human dendritic cells lead to stimulation of T cells. *PLoS ONE*. 9(1):e86567.
- 88.** BUDKOWSKA, A., KAKKANAS, A., NERRIENET, E., KALININA, O., MAILLARD, P., HORM, S.V., DALAGIORGOU, G., VASSILAKI, N., GEORGOPOULOU, U., MARTINOT, M., SALL, A.A., MAVROMARA, P. (2011). Synonymous mutations in the core gene are linked to unusual serological profile in hepatitis c virus infection. *PLoS ONE*. 6(1): e15871.
- 89.** LI, H.C., MA, H.C., YANG, C.H., LO, S.Y. (2014). Production and pathogenicity of hepatitis C virus core gene products. *World J Gastroenterol*. 20(23): 7104 – 7122.
- 90.** ATOOM, A.M., TAYLOR, N.G.A., RUSSELL, R.S. (2014). The elusive function of the hepatitis c virus p7 protein. *Virology*. 462-463: 377 – 387.
- 91.** LANGE, C.M., BELLECAVE, P., THI, V.L.D., TRAN, H.T.L., PENIN, F., MORADPOUR, D., GOUTTENOIRE, J. (2014). Determinants for membrane association of the hepatitis C virus NS2 protease domain. *Journal of Virology*. 88(11): 6519 – 6523.
- 92.** XUE, W., YANG, Y., WANG, X., LIU, H., YAO, X. (2014). Computational study on the inhibitor binding mode and allosteric regulation mechanism in hepatitis C virus NS3/4A protein. *PLoS ONE*. 9(2):e87077.
- 93.** SMITH, D.B., BUKH, J., KUIKEN, C., MURHOF, A.S., RICE, C.M., STAPLETON, J.T., SIMMONDS, P. (2014). Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes : updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 59: 318 – 327.

- 94.** GOWER, E., ESTES, C., BLACH, S., RAZAVI- SHEARER, K., RAZAVI, H. (2014). Global epidemiology and genotype distribution of hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology*. 61: 45 – 57.
- 95.** AĞCA, H., MİSTİK, R., KAZAK, E., (2013). Güney Marmara bölgesinde hepatit c virus genotiplerinin dağılımı. *J Clin Anal Med*. DOI: 10.4328/JCAM.1954.
- 96.** SAĞLIK, İ., MUTLU, D., ÖNGÜT, G., İNAN, D., ÖĞÜNÇ, D., CAN - SARINOĞLU, R., ÖZHAK- BAYSAN, B., GÜLTEKİN, M., ÇOLAK, D. (2014). Akdeniz Üniversitesi Hastanesinde kronik hepatit C enfeksiyonu hastalarda hepatit C virus genotipleri: beş yıllık sonuçların değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bült*. 48(3): 429 – 437.
- 97.** DAĞLAR, D., ERGANİ, A., DEMİRBAKAN, H., ÖZHAK – BAYSAN, B., ÖNGÜT, G., KOÇAK, H., ÖĞÜNÇ, D., AKBAŞ, H., YILDIRIM, B., ÇOLAK, D. (2014). Hemodiyaliz hastalarında hepatit B ve hepatit C virus enfeksiyonlarının serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırılması. *Mikrobiyol Bült*. 48 (1): 143 – 150.
- 98.** www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/.
- 99.** NEGRO, F. (2014). Epidemiology of hepatitis c in Europe. *Digestive and Liver Disease*. 46: 158 – 164.
- 100.** BARUT, H.Ş., GÜNAL, Ö. (2009). Dünyada ve ülkemizde hepatit C epidemiyolojisi. *Klimik Dergisi*. 22(2): 38 – 43.
- 101.** ALTER, M.J. (2007). Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 13(17): 2436 – 2441.
- 102.** SÜNBLÜ, M. HCV Enfeksiyonunun Epidemiyolojisi ve Korunma . *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*. İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.: 208 – 219.
- 103.** FLOREANI, A. (2013). Hepatitis C and pregnancy. *World J Gastroenterol*. 19(40): 6714 – 6720.
- 104.** MAUSS, S., BERG, T., ROCKSTROH, J., SARRAZIN, C., WEDEMEYER, H. *Short Guide to Hepatitis C 2014* . Flying Publishers. s.: 18 – 19.
- 105.** HO, M., YANG, C., CHEN, P., MAU, Y. (1994). Intrafamilial transmission of hepatitis C virus. *Journal of Clinical Microbiology*. 32(11): 2824 – 2826.

- 106.** CDC. (2011). Transmission of hepatitis C virus through transplanted organ tissue – Kentucky and Massachusetts, 2011. *MMWR*. 60(50): 1 – 32.
- 107.** ELZOUKI, A.Y., GARGOUM, H.M., HABAS, H.M., RAYANI, A.A., OTHMAN, M. (2014). Impact of hepatitis C infection on renal transplant patients: a single – center experience in Libya. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 25(6). 1315 – 1320.
- 108.** GARFEIN, R.S., VLAHOV, D., GALAI, N., DOHERTY, M.C., NELSON, K.E. (1996). Viral infections in short – term injection drug users: the prevalence of hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. *Am J Public Health.* 86: 655 – 661.
- 109.** AKINCI, E., BODUR, H. HCV Enfeksiyonunda Klinik ve Tanı. *Viral Hepatit 2007 (1.baskı)*. İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., BALIK, İ., TEKELİ, E. s.: 220 – 226.
- 110.** DIENSTAG, J.L., DELEMOS, A.S. Viral Hepatitis. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. BENNETT, J.E., DOLIN, R., BLASER, M.J. (2015). 8th Ed. Canada. Chapter 119.
- 111.** WESTBROOK, R.H., DUSHEIKO, G. (2014). Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology.* 61: 58 – 68.
- 112.** BACON, B.R. (2002). Treatment of patients with hepatitis c and normal aminotransferase levels. *Hepatology.* 36:179 – 184.
- 113.** AKARCA, U., BALIK, İ., ÖRMECİ, N., TABAK, F. (2011). III. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi rehberi. Viral Hepatitle Savaşım Derneği.
- 114.** CDC. (2012). Recommendations for the Identification of Chronic Hepatitis C Virus Infection Among Persons Born During 1945–1965. *MMWR.* 61(4): 1 – 36.
- 115.** KÖSE, Ş., ECE, G., ŞAMLIOĞLU, P., TOPALOĞLU, S. (2011). Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde düşük düzeyde anti –HCV pozitifliği saptanan örneklerin HCV – RNA düzeylerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 68(4): 191 – 196.
- 116.** CERİT, E.T., YURDAYDIN, C. (2006). Otoimmün hepatit ve varyantları. *Güncel Gastroenteroloji.* 10(3): 246 – 256.
- 117.** FLOREA, D., NEAGA, E., NICOLAE, I., MAXİM, D., POPA, M., OTELEA.

- D.(2014). Clinical usefulness of HCV core antigen assay for the management of patients with chronic hepatitis C . *J Gastrointest Liver Dis.* 23(4): 393 – 3
- 118.** GHANY, M. G., STRADER, D. B., THOMAS, D. L., SEEFF, L.B. (2009). AASLD Practice Guidelines diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 49(4): 1335 – 1374.
- 119.** FABRIZI, F., MARTIN, P. (2008). Occult hepatitis C virus infection in hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 19: 2248 – 2250.
- 120.** CARRENO, V. (2014). Seronegative occult hepatitis C virus infection: clinical implications. *Journal of Clinical Virology.* 61: 315 – 320.
- 121.** RADKOWSKI, M., HORBAN, A., GALLEGOS-OROZCO, J. F., PAWELCZYK, A., JABLONSKA, J., WILKINSON, J., ADAIR, D., LASKUS, T. (2005). Evidence for viral persistence in patients who test positive for anti – hepatitis C virus antibodies and have normal alanin aminotransferase levels. *The Journal of Infectious Diseases.* 191: 1730 – 1733.
- 122.** NICOT, F., KAMAR, N., MARIAME, B., ROSTAING, L., PASQUIER, C., IZOPET, J. (2009). No evidence of occult hepatitis C virus (HCV) infection in serum of HCV antibody – positive HCV – RNA – negative kidney – transplant patients. *Journal compilation 2009 European Society for Organ Transplantation.* 23: 594 – 601.
- 123.** FUJIWARA, K., ALLISON, R.D., WANG, R.Y., BARE, P., MATSUURA, K., SCHECHTERLY, C., MURTHY, K., MARINCOLA, F. M., ALTER, H. J. (2013). Investigation of residual hepatitis C virus in presumed recovered subjects. *Hepatology.* 57: 483 – 491.
- 124.** BERNARDIN, F., TOBLER, L., WALSH, I., WILLIAMS, J. D., BUSCH, M., DELWART, E. (2008). Clearance of hepatitis C virus RNA from the peripheral blood mononuclear cells of blood donors who spontaneously or therapeutically control their plasma viremia. *Hepatology.* 47: 1446 – 1452.
- 125.** ATTAR, B.M., THIEL, D. (2015). A new twist to a chronic HCV infection: occult hepatitis c. *Gastroenterology Research and Practice.* DOI:10.1155/2015/579147.
- 126.** MOUSA, N., ELDARS, W., ELDEGLA, H., FOU DA, O., GAD, Y., ABOUSAMRA, N., ELMASRY, E., ARAFA, M. (2014). Cytokine profiles and

hepatic injury in occult hepatitis C versus chronic hepatitis C virus infection. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 27(1): 87–96.

127. FLYNN, J.K., DORE, G.J., HELLARD, M., YEUNG, B., RAWLINSON, W.D., WHITE, P.A., KALDOR, J.M., LLOYD, A.R., FFRENCH, R.A., ATAHG Study Group .(2013). Maintenance of Th1 hepatitis C virus (HCV)-specific responses in individuals with acute HCV who achieve sustained virological clearance after treatment. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 28(11): 1770–1781.

128. DILL, M.T., DUONG, F.H.T., VOGT, J.E., BIBERT, S., BOCHUD, P.Y., TERRACCIANO, L., PAPASSOTIROPOULOS, A., ROTH, V., HEIM, M.H. (2011). Interferoninduced gene expression is a stronger predictor of treatment response than IL28B genotype in patients with hepatitis C .*Gastroenterology*. 140(3): 1021–1031.

129. ANGULO, J., PÍNO, K., PAVEZ, C., BIEL, F., LABBE, P., MIQUEL, J.F., SOZA, A., LOPEZ – LASTRA , M. (2013). Genetic variations in host IL28B links to the detection of peripheral blood mononuclear cells-associated hepatitis C virus RNA in chronically infected patients. *Journal of Viral Hepatitis*. 20(4): 263–272.

130. IBARRA, K.D., JAÍN, M.K., PFEIFFER, J.K. (2011) .Host-based ribavirin resistance influences hepatitis C virus replication and treatment response . *Journal of Virology* . 85(14): 7273–7283.

131. BARTOLOME,J., LOPEZ-ALCOROCHO, J. M., CASTILLO, I., RODRIQUEZ – INIGO, E., ANTONIO – QUIROGA,J., PALACIOS,R., CARRENO, V. (2007). Ultracentrifugation of serum samples allows detection of hepatitis C virus RNA in patients with occult hepatitis C. *Journal of Virology*. 81(14): 7710–7715.

132. CHOI, Y.S., LEE, J.E., NAM, S.J., PARK, J.T., KIM, H.S., CHOI, K.H., KIM, B.S., SHIN, E.C. (2013) Two distinct functional patterns of hepatitis C Virus (HCV)-specific T cell responses in seronegative, aviremic patients. *PLoS ONE*, vol. 8, no. 4,Article ID e62319, 2013.

133. GRANIERÌ, C., BAGAGLIÒ, S., LOGGÌ, E., PORRINO, L., CURSARO, C.,

MİCCO, L..(2011). High prevalence of occult hepatitis C virus infection in non alcoholic steatohepatitis and cryptogenetic liver diseases. *Dig Liver Dis.* 43(Suppl. 2):S91–2.

134. CASTILLO, I., BARTOLOME, J., QUIROGA, J.A., CARRENO, V. (2013). High prevalence of occult hepatitis C virus infection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Med Microbiol.* 62:1235–8.

135. DE MARCO, L., GILLIO-TOS, A., FIANO, V., RONCO, G., KROGH, V., PALLI, D., PANICO, S., TUMINO, R., VINEIS, P., MERLETTI, F., RICHIARDI, L., SACERDOTE, C. (2009). Occult HCV infection: an unexpected finding in a population unselected for hepatic disease. *PLoS ONE.* 4:e8128

136. CARRENO, V., PARDO, M., LOPEZ-ALCOROCHO, J.M., RODRIGUEZ – INIGO, E., BARTOLOME, J., CASTILLO, I. (2006). Detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in the liver of healthy, anti – HCV antibody – positive, serum HCV – RNA negative patients with normal alanine aminotransferase levels. *The Journal of Infectious Diseases.* 194: 53 – 60.

137. CASTILLO, I., RODRIGUEZ-INIGO, E., BARTOLOME, J., LUCAS, S., ORTIZ – MOVILLA, N., LOPEZ – ALCOROCHO, J.M., PARDO, M., CARRENO, V. (2005). Hepatitis C virus replicates in peripheral blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C virus infection. *Gut.* 54: 682–5.

138. THONGSAWAT, S., MANEEKARN, N., KUNIHOLM, M., PANTIP, C., THUNQSUPUTI, A., LUMLERTKUL, D., BANNACHAK, D., NELSON, K.E.(2008). Occult hepatitis C virus infection during an outbreak in a hemodialysis unit in Thailand. *J Med Virol.* 80:805-15.

139. ÖZGÜNEŞ, G.N. _Kronik hepatit C: bazı özellikli hasta gruplarında tedavi yaklaşımları. *Viral Hepatit 2009 (1.baskı).* TABAK, F., BALIK, İ. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği. Express Matbaası, İstanbul 2009, s.: 125-136*

140. KAZMIERCZAK, J., PAWELCZYK, A., CORTES, K.C., RADKOWSKI, M. (2014). Seronegative hepatitis C virus infection. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 62:145- 151.

141. VIDIMLISKI, P.D., NIKOLOV, I., GESHKOVSKA, N.M., DIMOVSKI, A., ROSTAING, L., SIKOLE, A. (2014). Occult hepatitis C virus infection: stil

remains a controversy. *Journal of Medical Virology*. 86: 1491 – 1498.

142. BAID – AGRAWAL, S., SCHINDLER, R., REINKE, P., STAEDTLER, A., RIMPLER, S., MALIK, B., FREI, U., BERG, T. (2014). Prevalence of occult hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis and kidney transplant patients. *Journal of Hepatology*. 60:928 – 933.

143. CACCAMO, G., SAFFIOTI, F., RAIMONDO, G. (2014). Hepatitis B virus and hepatitis C virus dual infection. *World J Gastroenterol*. 20(40): 14559 – 14567.

144. HELALY, G.F., GHAZZAWI, E.F., SHAWKY, S.M., FARAG, F.M. (2015). Occult hepatitis B virus infection in among chronic hemodialysis patients in Alexandria, Egypt. *J Infect Public Health*. DOI: 10.1016/j.jiph.2015.04.019.

145. SOWOLE, L., LABBETT, W., PATEL, M., O'RIORDAN, A., CROSS, A., DAVENPORT, A., HAQUE, T. (2015). The prevalence of occult hepatitis B virus (hbv) infection in a large multi – ethnic haemodialysis cohort. *BMC Nephrology*. 16:12.

146. FABRIZI, F., MESSA, P.G., LUNGHI, G., AUCELLA, F., BISEGNAS, S., MANGANO, S., VILLA, M., BARBISONI, F., RUSCONI, E., MARTIN, P. (2005). Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients : a multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther* . 21: 1341 – 1347.

147. JOUKAR, F., MANSOUR – GHANAEI, F., BESHARATI, S., KHOSH – SORUR, M. (2012). Occult hepatitis B infection in a hemodialysis population in Guilan province, Northern Iran. *Hemodialysis International*. 16: 294 – 297.

148. SAVCI, Ü. (2014). Hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B enfeksiyonunun polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. Gaziosmanpaşa Üniv. Tıp Fakültesi.

149. YUEN, M.F., WONG, D.K., LEE, C.K., TANAKA, Y., ALLAIN, J.P., FUNG, J., LEUNG, J., LIN, C.K., SUGIYAMA, M., SUGAUCHI, F., MIZOKAMI, M., LAI, C.L. (2011). Transmissibility of hepatitis B virus (HBV) infection through blood transfusion from blood donors with occult HBV infection. *Clinical Infectious Diseases*. 52(5): 624 – 632.

150. YAKARYILMAZ, F, GÜRBÜZ, O.A., GULİTER, S., MERT, A., SONGUR, Y., KARAKAN, T., KELES, H. (2006). Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis

C virus infections in Turkish hemodialysis patients. *Ren Fail.* 28:729-735.

151. RAMEZANI, A., AGHASADEGHI, M.R., AHMADI, F., RAZEGHI, E., ESLAMIFAR, A., BANIFAZL, M., SOFIAN, M., BAHRAMALI, G., HEKMAT, S., AGHAKHANI, A. (2015). Isolated anti –HBc and occult HBV infection in dialysis patients. *Nephro Urol Mon.* 7(1): e22674.

152. FONTENELE, A.M.M., GAINER, J.B.F., SILVA, D.V., CRUZ – SANTOS, M.D., SALGADO, J.V., SALGADO – FILHO, N., FERRERIA, A.S.P. (2015). Occult hepatitis B among patients with chronic renal failure on hemodialysis from a capital city in northeast Brazil. *Hemodialysis International.* 19: 353 – 359.

153. KATO, J., HASEGAWA, K., TORII, N., YAMAUCHI, K., HAYASHI, N. (1996). A molecular analysis of viral persistence in surface antigen - negative chronic hepatitis B. *Hepatology.* 23: 389 – 395.

154. SAGNELLI, E., PISATURA, M., MARTINI, S., FILIPPINI, P., SAGNELLI, C., COPPOLA, N. (2014). Clinical impact of occult hepatitis B virus infection in immunosuppressed patients. *World J Gastroenterol.* 6(6): 384 – 393.

155. SILVA, C.M., COSTI, C., COSTA, C., MICHELON, C., ORAVEC, R., RAMOS, A.B., NIEL, C., ROSSETTI, M.L. (2005). Low rate of occult hepatitis B virus infection among anti –HBc positive blood donors living in a low prevalence region in Brazil. *J Infect.* 51(1): 24 – 29.

156. CHAUDHURI, V., NANU, A., PANDA, S.K., CHAND, P. (2003). Evaluation of serologic screening of blood donors in India reveals a lack of correlation between anti – HBc titer and PCR – amplified HBV – DNA. *Transfusion.* 43 (10): 1442 – 1448.

157. AFYON, M. (2011). HBsAg negatif bağış kanlarında antiHBc IgG ve HBV – DNA PCR çalışılarak occult hepatit B virüs enfeksiyonu araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıp Fakültesi.

158. OLIVEIRA – LIBERATO, I.R., ALMEIDA – LOPES, E.D., MATTOS-CAVALCANTE, M.A.G., PINTO, T.C., MOURA, I.F., JUNIOR, L.L. (2012). Liver enzymes in patients with chronic kidney disease undergoing peritoneal dialysis and hemodialysis. *CLINICS.* 67(2): 131 – 134.

159. SETTE, L.H.B.C., LOPES, E.P.A. (2014). Liver enzymes serum levels in patients with chronic kidney disease on hemodialysis : a comprehensive review.

CLINICS. 69(4): 271 – 278.

160. FABRIZI, F., LUNGHI, G., ALONGI, G., AUCELLA, F., BARBISONI, F., CORGHI, E., FARANNA, P., MANGANO, S., ROMEI – LONGHENA, G., MARTIN, P. (2008). Kinetics of hepatitis B virus load and haemodialysis: a prospective study. *Journal of Viral Hepatitis*. 15: 917 – 921.

161. FABRIZI, F., LUNGHI, G., ALONGI, G., AUCELLA, F., BARBISONI, F., FARANNA, P., MANGANO, S., ROMEI – LONGHENA, G., ARTONI, A., BETTONI, G., MESSA, P., MARTIN, P. (2013). Kinetics of hepatitis B virus load during haemodialysis sessions and α – interferon: a prospective study. *Kidney Blood Press Res*. 37: 286 – 294.

162. JAMALI, R. (2014). The importance of occult hepatitis B infection screening in pre – transplant evaluation. *Thrita J Med Sci*. 3(2):e16044.

163. FISCHER, S.A., LU, K. (2013). Screening of donor and recipient in solid organ transplantation. *American Journal of Transplantation*. 13: 9 – 21.

164. DOĞUKAN, A., TAŞKAPAN, H., GÜVEN, M., TOKGÖZ, B., OYMAK, O., UTAŞ, C. (1999). Prediyaliz, hemodiyaliz ve sürekli ayaktan periton diyaliz hastalarında çift doz hepatit B aşısına yanıt. *Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. 4: 192 – 194.

165. YEN, Y.H., CHEN, C.H., WANG, J.H., LEE, C.M., CHANGCHIEN, C.S., LU, S.N. (2005). Study of hepatitis B (HB) vaccine nonresponsiveness among health care workers from an endemic area (Taiwan). *Liver Int*. 25:1162-1168.

166. AGHADEGHI, M.R., BANIFAZL, M., AGHAKHANI, A., ESLAMIFAR, A., VAHABPOUR, R., RAMEZANI, A. (2014). No evidence for occult HBV infection in hepatitis B vaccine non responders. *Iranian Journal of Microbiology*. 6(5): 350 – 353.

167. KDIGO. (2008). Kronik böbrek hastalığında hepatit C önleme, tanı değerlendirme ve tedavi klinik uygulama kılavuzu. *Kidney International* . 73(109):1–99.

168. CHEVALIEZ, S. (2011). Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. *Clin Microbiol Infect*. 17: 116 – 121.

169. HINRICHSEN, H., LEIMENSTOLL, G., SLEGEN, G., SCHRADER, ., FÖLSCH, U.R., SCHMIDT, W.E. (2002). Prevalence and risk factors of hepatitis

C virus infection in haemodialysis patients: a multicentre study in 2796 patients. *Gut*. 51: 429 – 433.

170. KAYMAN, T., KARAKÜKÇÜ, Ç., GÖDEK MERDAN, A.(2013). Anti – HCV pozitif olan hastaların HCV – RNA , serum transaminaz ve AST/ALT oranlarının değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Dergisi*. 19(3): 99 – 102.

171. PARDO, M., LOPEZ – ALCOROCHO, M., RODRIGUEZ – INIGO, E., CASTILLO, I., CARRENO, V. (2007). Comparative study between occult hepatitis C virus infection and chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis*. 14: 36 – 40.

172. YOUSSEF, S.S., NASR, A.S., ZANATY, T., RAWI, R.S., MATTAR, M.M. (2012). Prevalence of occult hepatitis C virus in Egyptian patients with chronic lymphoproliferative disorders. *Hepatitis Research and Treatment*. ID: 429784.

173. FARAHANI, M., BOKHARAEI – SALIM, F., GHANE, M., MEYSAMI, P., KEYVANI, H. (2013). Prevalence of occult hepatitis C virus infection in Iranian patients with lymphoproliferative disorders. *Journal of Medical Virology*. 85: 235 – 240.

174. CASTILLO, I., MARTINEZ – ARA, J., OLEA, T., BARTOLOME, J., MADERO, R., HERNANADEZ, E., BERNIS, C., AGUILAR, A., QUIROGA, J.A., CARRENO, V., SELGAS, R. (2014). High prevalence of occult hepatitis C virus infection in patients with primary and secondary glomerular nephropathies. *Kidney International*. 86: 619 – 624.

175. MARCO, L., MANZINI, P., TREVISAN, M., GILLO – TOS, A., DANIELLA, F., BALLOCO, C., PIZZI, A., FILIPPO, E., ANTICO, S., VIOLANTE, B., VALFRE, A., CURTI, F., MERLETTI, F., RICHIARDI, L. (2012). Prevalence and follow - up of occult HCV infection in an Italian population free of clinically detectable infectious liver disease. *PLoS ONE*. 7(8): e

176. BOZKURT, İ. (2011). Bölgemizdeki hemodiyaliz hastalarında hepatit C virüs enfeksiyonunun epidemiyolojik özellikleri ve ‘okkült’ C hepatiti sıklığının araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. Erciyes Üniv. Tıp Fakültesi.

177. PISATURA, M., GUASTAFIERRO, S., FILIPPINI, P., TONZIELLO, G., SILA,A., MARTINO, F., SAGNELLI, C., FERRARA, G., MARTINI, S., COZZOLINO, D., SAGNELLI, E., COPPOLA,N. (2013). Absence of occult HCV

infection in patients experiencing an immunodepression condition. *Le Infezioni in Medicina*. 4: 296 – 301.

178. ZAVAREH, M.S.R., ALAVIAN, S.M., KARIMISARI, H., SHAFIEI, M., HOSSEINI, S.Y.S. (2014). Occult hepatitis C virus infection in patients with autoimmune hepatitis. *Hepat.Mon.* 14(8):e16089.

179. BAŞER, H.M. (2014). Diyaliz hastalarında occult hepatit C'nin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enst.

180. TREVIZOLI, J.E., MENEZES, R.P., VELASCO, L.F.R., AMORİM, R., CARVALHO, M.B., MENDES, L.S., NETO, C. J., DEUS MACEDO, J. R., ASSIS ROCHA NEVES, F. (2008). Hepatitis C is Less aggressive in hemodialysis patients than in nonuremic patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 3: 1385 – 1390.

181. BUKH, J., WANTZIN, P., KROQSQAARD, K., KNUDSEN, F., PURCELL, R.H., MILLER, R.H. (1993). High prevalence of hepatitis C virus (HCV) RNA in dialysis patients: failure of commercially available antibody tests to identify a significant number of patients with HCV infection. Copenhagen Dialysis HCV Study Group. *J Infect Dis*. 168(6): 1343 – 8.

182. ÇİFTÇİBAŞI ÖRMECİ, A., KARACA, Ç. Viral Hepatitler ve Kronik Böbrek Yetersizliği. *Viral Hepatit 2013 (1.baskı)*. İstanbul. Viral Hepatitle Savaşım Derneği TABAK, F., TOSUN, S. Bölüm 35.