



**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA GİZLİ HEPATİT B  
ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**Arş. Gör. Ünsal SAVCI**

**UZMANLIK TEZİ**

**TOKAT**

**2014**

**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA GİZLİ HEPATİT B**  
**ENFEKSİYONUNUN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU İLE**  
**ARAŞTIRILMASI**

**Arş. Gör. Ünsal SAVCI**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Yunus BULUT**

**TOKAT**

**2014**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana daima yol gösteren ve tez çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Gaziosmanpaşa Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD Başkanımız sayın Doç. Dr. Gülgün YENİŐEHİRLİ' ye ve öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Yunus BULUT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Dört yıl boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. araştırma görevlileri ve teknisyen arkadaşlarıma, ayrıca destekleri ile bana her zaman güç veren eşime ve aileme gösterdikleri sabır ve anlayış için teşekkür ederim.

## ÖZET

Serumda hepatit B yüzey antijeninin (HBsAg) negatif olduğu durumlarda hepatit B virusu DNA'sının (HBV-DNA) düşük titrede varlığı gizli hepatit B olarak bilinmektedir. HBsAg testi negatifleşen bazı hastaların plazma ve karaciğer dokusunda HBV varlığı devam edebilmektedir. Bu durum tanısal sorunlara neden olmaktadır. Bu klinik tabloya sahip kişilerin HBV bulaştırıcılığı yönünden toplumda potansiyel bulaş riski oluşturmaları nedeniyle tespit edilmeleri çok önemlidir.

Gizli hepatit B enfeksiyonu; hepatoselüler kanser, kronik HCV enfeksiyonu, hemodiyaliz hastaları, kriptojenik sirozlu hastalar, madde bağımlıları ve intravenöz madde bağımlılarında, HIV enfeksiyonlu hastalarda, çok sık kan transfüzyonu yapılanlarda ve kan donörlerinde sıklıkla bildirilmiştir.

Bu çalışmada Tokat'ta bulunan iki farklı hemodiyaliz merkezinde, hemodiyaliz uygulanan HBsAg negatif 160 hasta çalışmaya alınmıştır. Kontrol grubu olarak hemodiyaliz uygulanmamış kronik böbrek yetmezliği olan 28 prediyaliz hastası olmak üzere toplam 188 hasta çalışma kapsamına alınmıştır. Bu gruplarda HBV-DNA varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile araştırılarak gizli hepatit B prevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi (PCR) ile hemodiyaliz hastalarının % 11,3'ünde (18/160) HBV-DNA varlığı saptandı. Kontrol grubunda 28 kronik böbrek yetmezliğine sahip hasta vardı. Hemodiyaliz tedavisi uygulanmayan bu prediyaliz hastalarında HBV-DNA varlığına saptanmadı.

Sonuç olarak çalışmamızda çıkan sonuçların hemodiyaliz hastalarında gizli HBV enfeksiyon oranının (% 11,3) azımsanamayacak düzeyde olduğu görüldü. Bu durumun diyaliz ünitelerinde bulaş riski oluşturmaması için, hemodiyaliz hastalarının HBsAg negatif olsalar bile analitik duyarlılığı yüksek moleküler yöntemler kullanılarak taranmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

## ABSTRACT

Serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) is negative in cases where, hepatitis B virus DNA (HBV-DNA) in the presence of low titer is known as occult hepatitis B. The HBV presence may continue in plasma and liver tissues of some patients whose HBsAg tests are negative. This situation causes diagnostic problems. Determination of these people who has this clinical picture is very important due to the potential risk of being infectious HBV in the community.

Occult hepatitis B infections have been frequently reported in hepatocellular cancer, chronic HCV infection, hemodialysis patients, cryptogenic cirrhosis patients, substance abusers and intravenous drug users, HIV-infected patients, more frequent blood transfusions and blood donors.

In this study, a total of 188 patients were examined in two different hemodialysis center in Tokat. 160 hemodialysis patients with HBsAg negative were included in the patients group, 28 chronic renal failure patients who have not yet taken hemodialysis were assigned to the control group. In these groups, determining of the prevalence of occult hepatitis B is aimed by using HBV-DNA by polymerase chain reaction (PCR) method.

The presence of HBV-DNA was detected in 11,3% hemodialysis patients (18/160) by using polymerase chain reaction method (PCR). In the control group there were 28 patients with chronic renal failure. HBV-DNA presence was not detected in these patients who were not previously hemodialysis.

As a conclusion of our study, a considerable level of HBV infection 11,3% in hemodialysis patients was observed. We suggest that screening with high analytical sensitivity of molecular methods may be useful for not taking the contagious risk in dialysis units even if hemodialysis patients were negative.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vi</b>
<b>KISALTMALAR ve SİMGELER</b> .....	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>x</b>
<b>TABLOLAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Hepatit B Virusunun Yapısı .....	3
2.2. Viral Genomu .....	5
2.3. HBV Virüsünün Replikasyonu .....	7
2.4. Viral Proteinlerin Sentezi .....	9
2.4.1. Kor proteinleri.....	11
2.4.2. P Proteini.....	12
2.4.3. X Proteini .....	12
2.5. HBV Genotipleri.....	13
2.6. HBV Mutasyonları .....	14
2.6.1. Prekor/kor geni mutasyonları.....	14
2.6.2. S geni mutasyonları.....	15
2.6.3. P geni mutasyonları.....	15
2.6.4. X geni mutasyonları.....	16
2.7. Hepatit B Virüsünün Epidemiyolojisi .....	16
2.7.1. Korunma .....	19
2.8. Hepatit B Virüs İnfeksiyonu.....	19

2.8.1. Akut Enfeksiyon .....	20
2.8.2. Kronik Enfeksiyon .....	20
2.9. HBV Enfeksiyonunun Tanısı.....	21
2.9.1. Serolojik Tanı.....	21
2.9.2. Direk Tanı Metotları .....	24
2.9.2.1. Hücre Kültürü.....	24
2.9.2.2. Viral Antijenlerin Gösterilmesi .....	24
2.10. Gizli Hepatit B Virüs İnfeksiyonu.....	25
2.11. Gizli Hepatit B Enfeksiyonu Oluşum Mekanizmaları.....	26
2.11.1. S geni mutasyonu .....	26
2.11.2. HBV DNA'nın genoma integrasyonu.....	27
2.11.3. Periferal kan mononükleer hücrelerinin HBV ile enfeksiyonu... 27	
2.11.4. HBV içeren immün kompleksler .....	28
2.11.5. Koinfeksiyon:.....	28
2.12. Gizli HBV Enfeksiyonunun Klinik Önemi .....	28
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun seçimi.....	31
3.2. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması .....	31
3.3. HBV DNA İçin Kullanılan Sarf Malzemeler ve Cihazlar .....	32
3.3.4. HBV DNA Kitleri .....	32
3.4. Prosedür .....	32
3.4.1. Örnek Hazırlama, Saklama ve Taşıma.....	32
3.4.2.1. PCR Master Mix.....	33
3.4.2.2. İnternal Kontrol .....	33
3.4.2.3. Pozitif Kontrol.....	33
3.4.2.4. DNA İzolasyonu.....	33
3.4.3. PCR'in Hazırlanması .....	34

3.4.4. Real-Time PCR Cihazının Çalıştırılması.....	35
3.5. İstatistiksel Analiz .....	36
<b>4.BULGULAR .....</b>	<b>37</b>
<b>5.TARTIŞMA .....</b>	<b>46</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>52</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>53</b>



## KISALTMALAR ve SİMGELER

- HBV: Hepatit B Virüsü  
DNA: Deoksiribonükleik asit  
HIV: Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)  
HBsAg: Hepatit B yüzey antijeni  
HBcAg: Hepatit B kor antijeni  
HBeAg: Hepatit B e antijeni  
RNA: Ribonükleik asit  
DR: Direct Repeats (Doğrudan tekrarlar)  
rcDNA: Relaxed-circular Deoksiribonükleik asit (Gevşek sirküler DNA)  
ORF: Open reading frame (Açık okuma bölgeleri)  
LHBs: Large HBs  
MHBs: Medium HBs (Orta HBs)  
SHBs: Small-HBs (Küçük HBs)  
Anti-HBs: Hepatit B yüzey antijenine (s antijeni) karşı gelişen antikor  
Anti-HBc: Hepatit B kor antijenine karşı gelişen antikor  
Anti-HBe: Hepatit B “e” antijenine karşı gelişen antikor  
HCC: Hepatosellüler karsinom  
HCV: Hepatit C virüsü  
Bp: Base pair (Baz çifti)  
CDC: Centers for Disease Control and Prevention  
EIA: Enzyme immunoassay (Enzim immüno testi)  
PCR: Polymerase chain reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)  
PKMH: Periferal kan mononükleer hücreleri  
PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu  
AST: Aspartat aminotransferaz  
ALT: Alanin aminotransferaz  
CRP: C-reaktif protein  
Anti-HCV: Hepatit C Virüsüne karşı oluşan antikor  
GHB: Gizli hepatit B  
WHO: Dünya Sağlık Örgütü  
SAPD: Sürekli ayaktan periton diyalizi

## ŞEKİLLER

1. Serumun elektron mikroskopik görüntüsünde üç farklı morfolojik yapının varlığı
2. Hepatit B virüsünün Yapısı
3. HBV'nin genleri ve sentezlenen RNA'lar
4. HBV replikasyonunun şematik gösterimi
5. HBV'nin dünya üzerindeki dağılımı
6. Akut HBV enfeksiyonunun seyri
7. Kronik HBV enfeksiyonunun seyri
8. Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı
9. Hastaların hemodiyaliz sürelerine göre dağılımı
10. Hastaların yaşlarına göre dağılımı

## TABLÖLAR

1. HBV genotip ve subgenotiplerinin coğrafik dağılımı
2. HBV enfeksiyonun farklı dönemlerinde serolojik göstergeler
3. Gizli hepatit B enfeksiyonu için risk altında olan gruplar
4. Hemodiyaliz hastalarında cinsiyet ve hemodiyaliz sürelerinin dağılımı
5. Hemodiyaliz ve prediyaliz hastalarının hepatit belirteçlerinin karşılaştırılması
6. Hemodiyaliz ve prediyaliz hastalarının AST, ALT ve CRP belirteçlerinin karşılaştırılması
7. Gizli hepatit B hastalarının genel özellikleri
8. Gizli HBV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının karşılaştırılması
9. Gizli HBV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının yaş gruplarına göre karşılaştırılması
10. Gizli HBV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının hepatit belirteçlerinin karşılaştırılması
11. Anti-HCV pozitif ve negatif hastaların yaş, AST, ALT, CRP ve diyaliz sürelerinin karşılaştırılması
12. İzole Anti-HBc pozitif ve negatif hastaların yaş, AST, ALT, CRP ve diyaliz sürelerinin karşılaştırılması

## 1.GİRİŞ

HBV enfeksiyonu; global bir halk sađlıđı problemidir ve dűnyada en sık gűrűlen bulaşıcı hastalıklardan birisidir. WHO; dűnya popűlasyonunun 1/3'űnden daha fazlasının HBV ile enfekte olduđunu tahmin etmektedir (1).

HBV'nin tek dođal konakçısı insandır. HBV enfeksiyonunun geçiş yolları; vertikal geçiş (perinatal olarak anneden çocuđa), seksűel aktivite (heteroseksűel ve erkek homoseksűel), intravenűz ilaç kullanımı ve diđer enfekte vűcut sıvıları ile fiziksel temas (mesleki temaslara, kontamine kan űrűnleri ile temas, insandan insana bulaş) ile olmaktadır (1).

Hepatit B virűs enfeksiyonunun tanısı virűse ait olan çeşitli antijenlerin veya bu antijenlere karşı konak cevabı ile oluřan antikorların spesifik serolojik testlerle tespit edilmesi sonucu konulmaktadır. Hepatit B yűzey antijeni (HBsAg) HBV enfeksiyonunun en űnemli belirteçlerinden biridir. HBsAg 6 ay pozitif olarak kalır ise hastalık kronik HBV enfeksiyonudur (2,3).

HBV sonucu gelişen hepatit olgularının bir kısmı kronikleşir veya siroza ilerleyebilir. Kronik HBV enfeksiyonu ve sirozlu hastaların % 12-55'inde hepatoselűler karsinom gelişir (4).

HBV enfeksiyonunun tanısında serolojik gűstergeler bazı durumlarda yetersiz kalabilir. Gizli HBV enfeksiyonunda viral replikasyonun gűsterilmesi için HBV DNA arařtırılmalıdır (5). Hepatit B virűs replikasyonunun en duyarlı gűstergesi HBV-DNA'nın serumda gűsterilmesidir. Antiviral tedavi ve tedavinin izlenmesinde de HBV-DNA seviyesinin takibi gereklidir (5).

Gizli Hepatit B virűs enfeksiyonu; HBV yűzey antijeni (HBsAg) negatif olan kiřilerde karaciđer dokularında (bazı durumlarda serumda da) viral genomların (HBV-DNA) uzun sűre kalması olarak tanımlanmıřtır (6, 7).

Gizli HBV enfeksiyonunun tanısı için, duyarlılığı yűksek HBV-DNA polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi gerekir. PCR testleri kullanılarak 10 kopya/ml DNA dahi, çoğaltılarak tespit edilebilir (5,7).

Gizli HBV enfeksiyonu, kriptojenik hepatit ve hepatosellüler karsinom (HCC) durumlarında daha sık gözleendiği, enfeksiyonun gizli bir seyir göstermesinde Human Immunodeficiency Virus (HIV) ve Hepatit C virus (HCV) ile ko-enfeksiyon olgularında, hemodiyaliz, transplantasyon ve intravenöz ilaç bağımlılığı gibi faktörlerin etkili olabileceği bildirilmiştir (8, 9).

Gizli hepatit B prevalansının net olarak bilinmemesinin nedeni coğrafik değişkenlik ve PCR metodlarının farklılık göstermesidir. Çok uluslu bir araştırmada farklı sebeplerle (kronik idiopatik hepatit, alkolik hepatit, HCC gibi) karaciğer biyopsisi yapılan HBsAg (-) hastaların parafin blokları incelenmiş, bu hastaların karaciğer dokularında nested PCR metoduyla gizli hepatit B prevalansları; İtalya'da % 11, Hong Kong'ta % 6,9, İngiltere'de % 0 olarak bildirilmiştir (10).

HBV- DNA'nın tespiti için farklı yöntemlerin uygulanması ve toplumdaki HBV risk faktörlerinin farklılık göstermesi nedeniyle prevalans çalışmalarının karşılaştırılmasında zorluklar yaşanmaktadır. İlk olarak topluma dayalı araştırma Kanada'da yapılmıştır. Daha önce hepatit B geçiren bireylerde gizli hepatit B prevalansı %18 olarak bildirilmiş, seronegatif (HBV belirteçlerinin tamamı negatif) bireylerde % 8,1 olarak bildirilmiştir (11).

Uzun dönem hemodiyaliz uygulanan hastalarında gizli hepatit B enfeksiyonu prevalansı ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Yapılan bu çalışmalarda hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B enfeksiyon oranı % 0-58 arasındadır. Kronik hepatit C'li hemodiyaliz hastalarında ise gizli HBV enfeksiyonu %36,4' dür (12).

Bizim çalışmamızda Tokat'ta bulunan iki farklı hemodiyaliz ünitesinde HBsAg negatif olan hastalar arasında gizli hepatit B sıklığı araştırılmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

Viral hepatitler, ilk defa M.Ö. beşinci yüzyılda tanımlanmıştır. Hepatit B virusu (HBV) kan yoluyla bulaşan sarılık etkeni olarak ilk defa Blumberg ve Alter'in 1965'de 'Avustralya antijeni'ni bulmasıyla tanımlanmıştır. Avustralya kökenli lösemili bir hastanın serumunda hepatit B yüzey antijenini göstermişlerdir. Bunun arkasından akut hepatit B geçiren bir hastada aynı antijen gösterilmiş ve enfeksiyon için spesifik bir test olarak tanımlanmıştır (13).

Bu Avustralya antijeninin hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) olduğu tanımlanmış ve HBsAg'nin akut ve kronik hepatit B enfeksiyonu ile ilişkisi ortaya çıkarılmıştır (1).

1970'li yılların başlarında serum örneklerinde günümüzde 'Dane partikülleri' olarak isimlendirilen geniş küresel yapılar tanımlanmıştır (14).

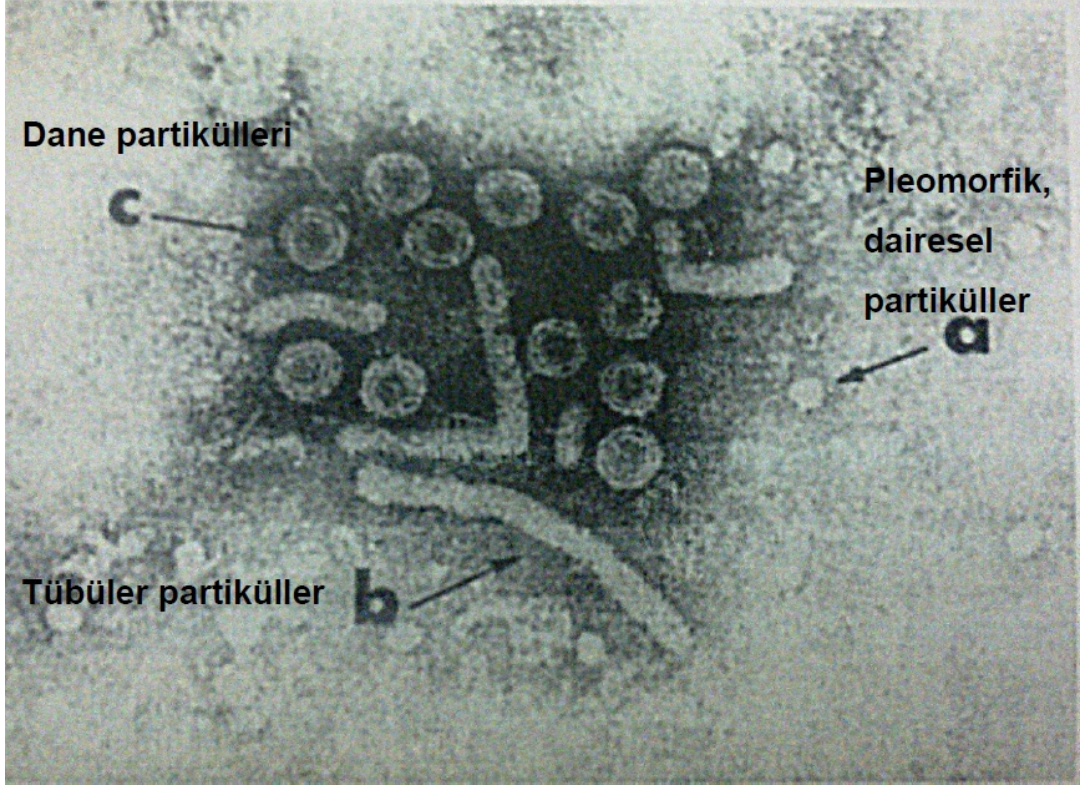
Krugman, ısı ile inaktive edilen hepatit B yüzey antijeni pozitif serumların immunojenik olduğunu ve aşı olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. 1972'de Magnius ve Espmark virusun "e antijeni"ni tanımlamışlardır. 1979'da ise DNA'sı klonlanarak tam nükleotid dizisi çıkarılmıştır (13).

### 2.1. Hepatit B Virusunun Yapısı

HBV; kısmi çift sarmallı ve zarflı bir DNA virüsüdür ve Hepadnaviridae ailesinin prototip bir üyesidir. Hepadnaviridae ailesindeki virüsler, dağ sıçanı, tarla sincabı, ördek ve balıkçıldan izole edilmiştir (1).

HBV ve dağ sıçanı ile tarla sincabında bulunan hepadnavirüsler ortohepadnavirüs grubundadır. Ördek ve balıkçıldaki HBV ise avihepadnavirüs grubunda yer alır (15).

HBV ile enfekte hastalarının serumlarının incelenmesi sonucu çeşitli oranlarda 3 farklı morfolojik yapının olduğunu gösterilmiştir.



*Sekil 1: Serumun elektron mikroskopik görüntüsünde üç farklı morfolojik yapının varlığı (16).*

Şekil 1. de görüldüğü gibi virüsün yapısında en fazla bulunan 22 nanometre çapında pleomorfik, sferik, non-infeksiyöz partiküler formlardır. İkinci form filamentöz ve tübüler formlardır ve bunlarda non-infeksiyözdür. Üçüncü form ise HBV virionudur. 42 nm çapında bu küresel partiküller infektiftir ve HBsAg'den oluşmaktadır. HBV'nün çekirdeğinde; kısmi çift sarmal DNA, hepatit B kor antijeni (HBcAg), hepatit B e antijeni (HBeAg) ve DNA bağımlı RNA polimeraz bulunmaktadır (16).

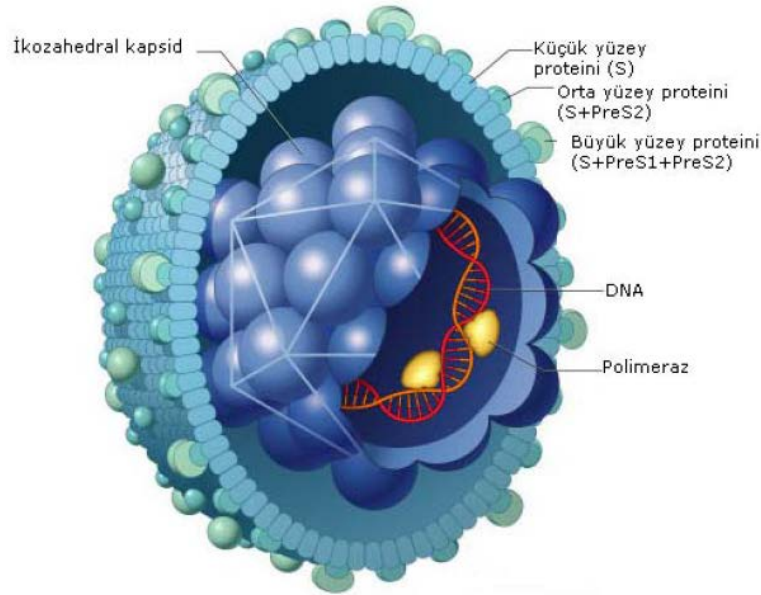
Bu üç tip partikülün hepsi anti-HBs antikorları ile reaksiyon verir. Bunun nedeni hepsinin yapısında da HBs olarak bilinen ortak yüzey antijeninin bulunmasıdır. Hepatit B virusu yüzey antijeni 24 kD büyüklüğünde bir protein olup, glikozillenmiş veya glikozillenmemiş şekilde bulunabilir. Hepatit B virusu ile enfekte bireylerin serumlarında bol miktarda enfeksiyon oluşturmeyen HBsAg saptanır. Aşı üretiminde özellikle enfeksiyon oluşturmeyen 22 nm'lik sferik ve filamentöz HBsAg yapıları kullanılır (17).

22nm'lik partiküllerin tamamı yüzey antijeninden oluşurken, Dane partiküllerinin sadece 7 nm kalınlığındaki dış bölgesi, lipid tabakası içine integre olmuş yüzey antijeninden oluşur. Bu tabakanın altında ise 25-27 nm çapındaki 'Kor Bölgesi' bulunur. Akut hepatit B olgularında tespit edilen anti-HBc (Hepatit B kor antikoru) ile bu bölgenin reaksiyon verdiği belirlenmiştir. Günümüzde HBcAg (Hepatit B kor antijeni) olarak isimlendirilen bu kor bölgesinin, kılıf tabakasından farklı bir antijenik yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Nükleokapsit bölgesi, HBcAg özelliğinin yanısıra bu antijenin yapısal değişikliğe uğramış şekli olan HBeAg (Hepatit B e antijeni) özelliğini de taşır. Kor bölgesi bu iki antijenin dışında, virus DNA'sını, DNAPolimeraz enzimini ve DNA'ya kovalent bağlarla birleşmiş bir polipeptidi de içermektedir.

Enfektif özellikte olmayan formlar Dane partiküllerinden daha fazla üretilir (%85). Dane partiküllerinin sayısı  $10^4$ - $10^9$ /ml arasında iken, enfeksiyöz olmayan küresel partiküllerin sayısının  $10^{13}$ /ml veya daha fazla olduğu bildirilmiştir. (18, 19).

## 2.2.Viral Genomu

HBV birçok sıra dışı özelliğe sahip küçük zarflı bir DNA virüsüdür. Spesifik olarak genomu küçük, çembersel, yalnızca 3200 nükleotidden oluşan kısmi çift iplikli DNA içerir (1).



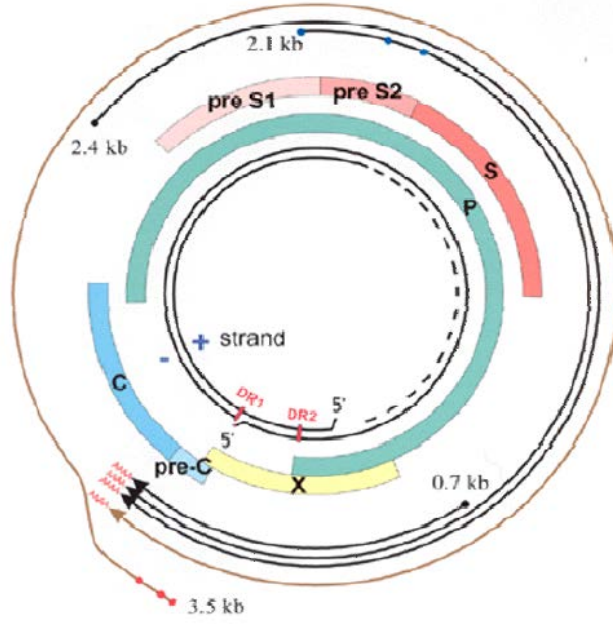
Şekil 2. Hepatit B Virüsünün Yapısı(20).



Virus proteinlerini kodlayan uzun zincir (L veya negatif zincir) 3200 nükleotid taşır ve tam bir halka oluşturur. Daha kısa olan zincirin (S veya pozitif zincir) uzunluğu ise değişkendir (1800–2700 nükleotid). Bu nedenle DNA molekülünün bir kısmı tek sarmalıdır. Bu zincirler ortak baz çiftlerine sahip olup, sirküler bir yapı halinde bulunmakla birlikte, 3' ve 5' uçları ile birbirleriyle birleşemediklerinden gerçekte lineer moleküllerdir. Hepatit B virusu DNA'sının çembersel şekildeki yapısal bütünlüğü her iki zincirin 5' uçlarından birbirlerine hidrojen bağları ile tutunmaları sonucu gerçekleşir. Bu bölgeler 10–12 nükleotidlik yinelenen dizinlerden meydana gelmiş sabit bölgeler olup, DR (Direct Repeats) olarak adlandırılırlar. Hepatit B virusunda iki adet DR (DR1 ve DR2) bulunur.

Negatif iplikçiğin 5' ucunda kovalen bağlanmış viral polimeraz ve pozitif iplikçiğin 5' ucunda kovalen bağlanmış oligonükleotid RNA bulunur. Viral genomun bu yapısı gevşek sirküler DNA (rcDNA= relaxed-circular, partially double –stranded DNA) olarak adlandırılmaktadır (18).

Hepatit B virusunun kodlanmış genetik bilgisinin tamamı negatif sarmal üzerindedir. Sarmal üzerinde 4 tane açık okuma alanı (ORF=open reading frame) bulunur. Bunlar S, C, X ve P bölgeleridir. Bu dört gen bölgesi birbiri ile iç içedir. Genomun en uzun geni olan P geni X ve C geni ile kısmen, S geni ile tamamen çakışmış durumdadır. Bu şekilde uzun sarmal 1,5 defa okunur. HBV'nin S geni; virionu çevreleyen yüzey proteinlerini, C geni; kapsid proteinlerini, X geni; X proteinini ve P geni de; revers transkriptaz aktivitesine sahip DNA polimerazı kodlar. Gen üzerinde bulunan her bölge (S geni üzerindeki pre-S1, pre-S2 ile C geni üzerindeki pre-C ve C bölgeleri) için farklı başlangıç kodonları bulunmaktadır. Bu şekilde birbiri ile ilişkili, birden fazla proteinin sentezi sağlanmış olur. Sekil 3'de gösterilmiştir (19).



Şekil 3: HBV'nin Genleri ve Sentezlenen RNA'lar (20)

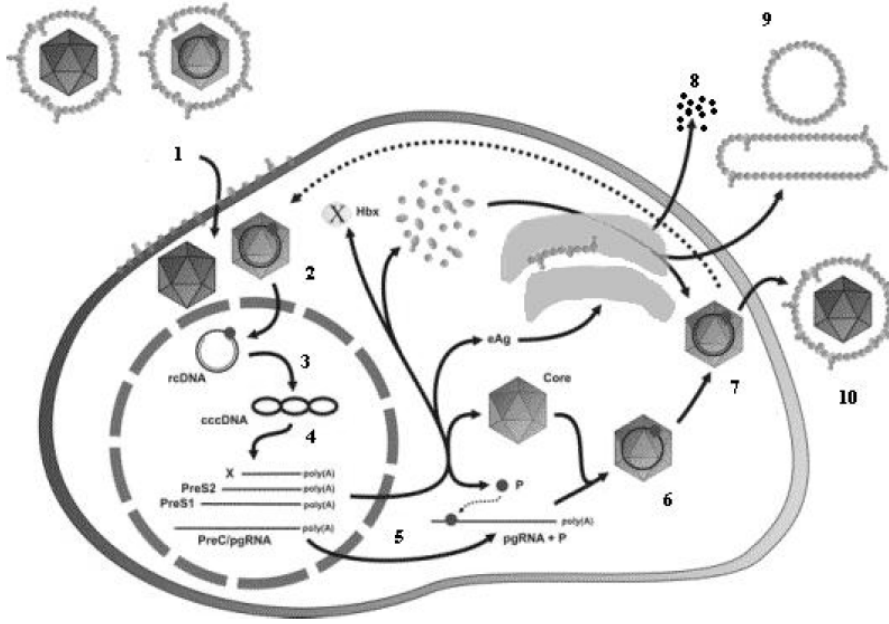
Hepatit B virusu, dört adet açık okuma bölgesine (ORF) sahip olmasına rağmen yedi farklı polipeptit üretebilmektedir. (Large HBs, Medium HBs, Small HBs, HBeAg, HBcAg, DNA polimeraz ve HBxAg) (21).

### 2.3. HBV Virüsünün Replikasyonu

Replikasyonun ilk aşamasında; virüs hedef hücreye bağlanarak hücre içine girer. Hepatositler, bu virüsün spesifik hedefidir. HBV'nin konak hücreye bağlanmasında fibronektin, transferrin reseptörü, apolipoprotein H, polimerize insan serum albümini, pre-S2 glikan, HBV bağlayan faktör gibi birçok reseptör aday tanımlanmıştır (22).

1. Tutunma, adsorpsiyon ve penetrasyon.
2. Kor'un çekirdeğe taşınması.
3. Covalently closed circular DNA'nın meydana gelmesi.
4. Transkripsiyon ve viral RNA'ların sentezlenmesi
5. Translasyon ve viral proteinlerin sentezlenmesi
6. Pre- genomik RNA ve viral polimerazın enkapsidasyonu.

7. Revers transkripsiyon sonucu DNA sentezi.
8. HBeAg salınımı.
9. Sferik ve filamentöz partiküllerin salınımı.
10. Olgun, enfeksiyöz virionun (Dane partikülü) salınımı.



Şekil 4: HBV replikasyonunun şematik gösterimi (20)

Son yıllarda, hepatit B virüsünün hepatositlere tutunmasında görev alan L ve M proteinlerinin de önemi tespit edilmiş, in vitro koşullarda pre-S1 ve pre-S2'de karaciğere spesifik tutunma bölgeleri tanımlanmıştır (23,14).

Hepatit B virüsünün replikasyon kapasitesi çok yüksektir ve günde  $10^{11} - 10^{13}$  virüs salınır (24).

HBV replikasyonu sitopatik değildir ve hücrede belirgin olarak morfolojik değişiklikler yapmaz (25).

Prodüktif enfeksiyon çok sınırlı hücrede meydana gelir ve HBV'nin replikasyonu için hepatositler tek ispatlanmış bölgedir. Safra kanalı epitelyum hücreleri, pankreasın bazı ekzokrin ve endokrin hücreleri, böbrek ve lenfoid doku da enfeksiyon hedefi olabilir. Fakat hepatosit dışı replikasyon bölgelerinin viral patogeneze rolü olmadığı düşünülmektedir (26).

Virüs hepatosite bağlandıktan sonra konak hücrenin çekirdeğine nasıl ulaştığı hakkında kesin bilgiler yoktur. Virüs büyük olasılıkla reseptöre bağımlı endositozile hücreye girer, virüs DNA'sı ve nükleokapsid viriyondan ayrılmakta ve konak hücrenin çekirdeğine yerleşmektedir.

Serbest HBV DNA'sının kısa zincirinin eksik bölümü endojen DNA polimeraz enzimi tarafından tamamlanarak, tamamen çift sarmallı, uçları kapalı, sirküler yapıda bir HBV-DNA meydana gelir. Kalıp olarak konak hücre RNA polimerazın (RNA polimeraz 2) yardımı ve viral düzenleyicilerin (4 adet promoter, 2 adet enhancer) aktiviteleriyle DNA'dan viral RNA'lar sentezlenir. Bunu konak hücre sitoplazmasında devam eden replikasyon süresince 3.5 kb'lık RNA(+RNA)'dan (-) DNA sarmalının sentezlenmesi takip eder. Kalıp olarak kısa zincirin sentezi için uzun zincir kullanılır. Kısmi çift sarmallı sirküler yapıdaki kor kısmı kılıf proteinleri tarafından çevrelenir ve aynı zamanda polimeraz tükenererek kısa zincirin sentezi tamamlanamadığı için bu sarmal eksik olarak kalır. Meydana gelen kısmi çift sarmallı DNA molekülüne sahip viral partikül, konak hücreden dışarı çıkar yada yeni bir replikasyon için hücrenin nükleusuna geçer (23, 27, 21, 28). *Şekil 4'*de gösterilmiştir.

#### **2.4. Viral Proteinlerin Sentezi**

Zarf veya yüzey proteinleri (HBsAg): S geni tarafından büyük yüzey proteini (LHBs-Large HBs), orta yüzey proteini (MHBs-Medium HBs) ve küçük yüzey proteini (SHBs-Small HBs) olmak üzere bu gen üç adet yüzey proteini sentezler. Bu proteinler hem Dane partiküllerinin yüzeyinde hem de enfekte hastaların karaciğer ve serumlarında tespit edilen 22 nm çapındaki küresel ve tübüler partiküllerin yapısında bulunurlar (19, 20).

Tek bir gen tarafından kodlanan bu proteinlerdeki farklılıklar aslında sentezin aynı gen üzerindeki farklı başlangıç kodonlarından başlamasından kaynaklanmaktadır. Her üç bölgenin başlangıç kodonları farklı olmakla beraber ortak 3' ucuna sahip olduklarından, sentez hangi kodondan başlarsa başlasın aynı 3' ucunda sonlanarak üç farklı protein molekülü sentezlenmektedir.

Okuma işlemi gen üzerindeki ilk kodondan başladığı zaman preS1+preS2+S bölgelerinin tamamı okunacağından büyük yüzey proteini (LHBs-Large HBs), S geni üzerindeki ikinci kodondan başlar ise preS2+S bölgelerin okunur ve orta yüzey proteini (MHBs-Medium HBs) ve yalnızca S bölgesini içerir ise küçük yüzey proteini (SHBs-Small-HBs) sentezlenir (29, 30).

Büyük yüzey proteini (LHBs-Large HBs)'nin; virion konak hücreye bağlanmasında, hepatositlere adsorpsiyonu, kor proteinlerinin kılıflanmasında, bunun yanında T ve B lenfositleri için önemli antijenik bölgeler içerdiğinden viral enfeksiyonlardan da korunmada rolü olduğu düşünülmektedir. LHBs'nin 21-47. aminoasitleri arasındaki bölgenin, hepatositlere bağlanma özelliği olduğu, burada lezyon oluşturabileceği tespit edilmiş ve bu bölgeye karşı oluşan antikorların bağlanmayı önlediği gösterilmiştir (31, 32).

Orta yüzey proteini (MHBs-Medium HBs)'nin HBV'nin hepatosite adsorbsiyonunda rol aldığı düşünülmektedir. M proteininin replikasyon olmadığı zamanlarda HBsAg içerisinde yer almadığının saptanmasıyla, pre-S2 varlığının tespiti, viral replikasyonun bir göstergesi olarak kabul edilir (33).

HBsAg partiküllerinin ana bileşeni küçük yüzey proteini (SHBs-Small HBs)'dir. Serumda bulunan filamentöz HBsAg partikülleri çoğunlukla S ve daha az miktarlarda M ve L glikoproteinlerini içerir (1).

Enfeksiyonun erken döneminde oluşan büyük yüzey proteinleri (LHBs) ve orta yüzey proteinleri (MHBs) ve bu proteinlere karşı antikor oluşumu iyileşmenin göstergesi olarak kabul edilir (28).

HBsAg glikoproteinleri gruba özgü ('a' diye adlandırılan) ve türe özgü ('d' ya da 'y' ve 'w' ya da 'r' ) determinantlar taşır. Bu antijenlerin farklı kombinasyonları sonucu epidemiyolojik belirleyici olarak kullanılan sekiz HBV subtipi ortaya çıkar (1).

### 2.4.1. Kor proteinleri

C geni, üzerinde Pre-C ve C olmak üzere okuma işleminin başladığı iki ayrı gen bölgesi içermesi nedeniyle iki farklı protein (HBeAg ve HBcAg) sentezler (34, 35).

Okuma işlemi pre-C'den başlarsa her iki bölge (pre-C ve C) de okunur ve HBeAg proteini sentezlenir. Eğer okuma işlemi C bölgesinden başlarsa HBcAg proteini sentezlenir (36).

Kanda dolaşan HBeAg spesifik olarak serum albumini, immunglobulin ve alfa-antitripsine bağlanma özelliğinden yapısındaki HBcAg ile ilgili determinantlar maskelenir ve özgül olarak Hepatit B enfektivite antijenine karşı antikor (anti-HBe) bağlanabilirken, anti-HBc ile reaksiyona girmez.

HBeAg ekstrasellüler ortama sekrete edilir, fakat HBcAg için böyle bir durum söz konusu değildir. Bundan dolayı dolaşımda serbest halde HBcAg bulunmaz. Kanda sadece Dane partiküllerinin içinde bulunur (13, 29).

HBeAg, yapısal bir protein olmamakla birlikte, hepatositin dış yüzeyinde ve serumda çözünür halde bulunur. Anti-HBe'ye bağlanabildiği halde, anti-HBc ile reaksiyon vermez. HBeAg'nin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Fakat viral replikasyonun bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Ancak yapılan bazı araştırmalar, HBeAg'nin replikasyon için gerekli olmadığını ve anti-HBe ile birlikte vireminin tespitinde güvenilir bir parametre olamayacağı ileri sürülmektedir (21, 28,37).

HBcAg ve HBeAg'nin immünojiteleri çok güçlüdür. HBcAg'nin immunojenitesi HBsAg'den daha yüksektir ve T hücre bağımsız antijen özelliğine sahiptir. Hepatit B virüsü ile enfekte olan hastaların neredeyse hepsinde HBeAg ve HBcAg'ye karşı hem hücresel aynı zamanda da humoral cevap gelişir. HBcAg'ye özgül olan T hücreleri, HBsAg'ye humoral cevabı başlatabilir ya da bu yanıtı fonksiyonel yardım sağlayabilmesine rağmen, anti-HBsAg'nin tersine HBcAg'ye karşı gelişen antikorlar koruyucu özellikte değildir.

Anti-HBc antikorları erken tespit edilir ve uzun süre kalıcı olmasından dolayı, hepatit B enfeksiyonu geçiren sağlıklı bireylerle beraber kronik HBV enfeksiyonlu hastaların serumlarında da tespit edilir.

Anti-HBc IgM antikorunu akut dönemde; HBsAg'nin kaybolduğu anti-HBs'nin henüz tespit edilemediği pencere döneminde pozitifleşir. Fakat bu antikor tek başına akut enfeksiyonu göstermez. Bunun sebebi bazı HBsAg taşıyıcılarında ve kronik hepatitli hastaların çoğunda düşük titrelerde de olsa Anti-HBc IgM antikorlarının bulunmasıdır. Sonuç olarak anti-HBc IgM antikorunun negatif olması pozitifliğinden daha değerli bir parametre olarak kabul edilmektedir (21, 33).

#### **2.4.2. P Proteini**

P geni en uzun gendir, genomun %80'ini kapsar ve diğer üç genle ortak dizileri kullanır. Kodladığı polimeraz proteini pgRNA'dan sentezletilir. Polimeraz proteini multi fonksiyonel bir proteindir, revers transkriptaz, DNA polimeraz ve RNaz H aktivitelerine sahip bölümleri bulunur (13).

Pol geni;

- a) Terminal protein (tp),
- b) Spacer ( birleştirici) bölge,
- c) Revers transkriptaz/ DNA polimeraz (rt),
- d) Ribonükleaz (rn) bölgesi.

Olmak üzere dört farklı bölgeden oluşmaktadır (38).

#### **2.4.3. X Proteini**

Doğal enfeksiyondaki rolü tam bilinmemekle birlikte virüs replikasyonu için gereklidir. *İn vitro* ortamda viral genleri ve konağın MHC genlerini aktive ettiği gösterilmiştir (39).

Bununla birlikte, X proteini tümör supressör gen ürününün (p53) işlevini bozar. Bundan dolayı HBV ile ilişkili hepatokarsinoma sürecinin ilk aşamasında etkili olduğu ve HbxA'nin hepatosellüler karsinom (HCC) gelişiminde rol aldığı düşünülmektedir. Bu sebepten X sekansına ait sentetik peptidler kullanılarak hastaların serumunda Anti-HBx antikorlarının tespitinin HCC'nin erken tanısında için yararlı olabileceği bildirilmektedir (40, 41).

## 2.5. HBV Genotipleri

HBV A'dan H'ye isimlendirilmiş 8 farklı genotip olarak gruplandırılmıştır (61,91). HBV'nin ilk olarak tiplere ayrılmasında HBsAg'nin antijenik heterojenitesinin tespiti için serolojik analizler kullanılmıştır. 9 HBsAg subtipi belirlenmiştir. Bunlar ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4q<sup>-</sup>, adrq<sup>+</sup> ve adrq<sup>-</sup> subtipleridir (91). Belirlenen antijenik farklılıklar ve genetik tiplendirmeler sonucunda HBV izolatlarının birbirinden %8 ve daha fazla farklılığa sahip 8 farklı genotip oluşmuştur (91,92). Yapılan sonraki araştırma ve raporlar genotipleri farklı coğrafik kökenli subgruplara ayırmıştır (5, 63, 91). *Tablo 1'* de görülmektedir (42-46).

*Tablo 1: HBV genotip ve subgenotiplerinin coğrafik dağılımı (16)*

Genotip	Subgenotip	En sık görüldüğü coğrafi bölge
A	A1	Avrupa, Hindistan, Afrika, Kuzey
	A2	Amerika
B	B1	Japonya
	B2	Çin
	B3	Endonezya
	B4	Vietnam
C	C1	Japonya, Çin, Kore
	C2	Çin, Güneydoğu Asya
	C3	Yeni Zelanda
	C4	Polonez Adaları
D	D1, 2, 3, 4	Tüm dünyada
E	Yok	Batı Afrika
F	F1	Orta Amerika
	F2	Güney Amerika
G	Yok	ABD, Meksika, Avrupa
H	Yok	Orta Amerika ve Kaliforniya



HBV'nin genotipi; hastalığın aktivitesini, prognozunu ve tedaviye cevabı etkilemektedir. HBsAg negatif gizli HBV enfeksiyonu olan hastaların %61'i genotip D'ye sahiptir. Buna karşılık HBsAg pozitif olan hastaların %53'ü genotip A'dır. Belirtilen sonuçlar gizli HBV enfeksiyonu gelişiminde genotipin etkili olabileceğini düşündürmektedir. Türkiye'deki HBV virus genotipi D'dir, diğer tipler nadir olarak görülmektedir (47).

Yapılan subtip çalışmalarında ülkemizde HBV subtipi "ayw" olarak belirlenmiştir (48). Hepatit B virusunun subtipleri serolojik olarak ayrılabilmesi için monoklonal antikolar kullanılır ve HBV enfeksiyonunun takip edilmesinde yardımcı olabilir (49).

## **2.6. HBV Mutasyonları**

HBV ile enfekte bireylerde enfeksiyon yaşının büyümesiyle beraber, viral popülasyonda mutant virüslerin oluştuğu belirlenmiştir. Deneysel olarak HBV'nin mutasyon hızı, her enfeksiyon yılında 10 000 bp için bir nükleotid olarak hesaplanmıştır. Bu mutasyon hızı diğer DNA virüslerinden 10-100 kez fazla olup, HBV'nin RNA aracısı kullanarak revers transkripsiyonla replike olmasına bağlıdır. Kronik uzun süreli bir enfeksiyon olan HBV enfeksiyonunda viral replikasyon hızının ve revers transkriptaz hata oranının yüksek olması, popülasyon içinde mutant kökenlerin zamanla birikmesine neden olur (13).

### **2.6.1. Prekor/kor geni mutasyonları**

Güney Avrupa ve Asya'da ağır karaciğer hastalığı ve aktif viremi olan birçok hastada HBsAg'nin negatif olduğu görülmüştür (13).

Bu hastalarda düşük seviyede ya da kaybolmuş HBeAg ekspresyonu ile ilişkisi ortaya konulan iki mutasyon belirlenmiştir. Burada belirtilen ilk mutasyon, preC bölgesinde stop kodonu oluşumu ile translasyonu durduran mutasyondur. Normalde preC bölgesinde stop kodonu yoktur ve sentez işlemi preC bölgesinin start kodonundan başlar ve C bölgesinin start kodonu ile devam eder.

Eğer preC bölgesinin 1896. nükleotidindeki guanin'in (G) yerine adenin (A) gelirse triptofan kodonu olarak bilinen kodon 28 (TGG), stop kodon (TAG) haline gelir ve HBeAg proteini oluşamaz. Belirtilen bu nokta mutasyonu C bölgesinin start

kodonundan önce meydana geldiği için ve HBeAg ile HBcAg farklı mRNA moleküllerinden sentezlendiğinden HBeAg üretilmez. Ancak HBcAg'nin sentezi devam eder (20, 50).

'e-negatif olarak adlandırılan bu varyant viruslar, fulminan hepatit ve ağır kronik karaciğer hastalarında da tanımlanmıştır. 'Core promoter' bölgesi, HBV'nin replikasyonu ve morfogenezinde en önemli rolü üstlenen gen bölgesidir. Bu bölgede HBV genotipine bağlı olarak 'precore' mutasyonları görülür. Bu mutasyonlar genellikle 1762. ve 1764. pozisyonlarda izlenir. A1762T ve G1764A ikili transizyonlarında precore mRNA transkripsiyonu baskılanmakta ve HBeAg salınımı %70 oranında azalmaktadır (13).

### **2.6.2. S geni mutasyonları**

HBV'ye karşı nötralizan antikor yanıtına neden olan 'a' determinantındaki 124-147. aminoasitler arası, tüm subtiplerde oldukça korunmuş bir bölgedir. 145. pozisyonda bulunan glisin, arjinine değişmesine neden olan mutasyon (sG145R) virüste büyük antijenik değişikliğe neden olur.

HBsAg'nin üç boyutlu yapısında olan bu değişiklik, anti-HBs'nin nötralizan etkisinden kurtulmasına ve replikasyona devam etmesine neden olur. Bu gen bölgesinde sD144A, sD126I/T, sL141E mutasyonları ve 122 ile 123. aa. ler arasına insersiyon ile oluşan mutasyonlarda bildirilmiştir. Aşının korumadığı bu durum 'aşı kaçak mutantları' olarak adlandırılmaktadır. Karaciğer transplantasyonundan sonra HBV reenfeksiyonunu önlemek amacıyla hepatit B hiperimmünglobülini (HBIG) kullanımı sırasında da 12 ay içerisinde hastaların %20' sinde 'a mutantları' seçilmektedir.

Antikor etkisinden kaçan bu virüslere 'immün kaçak mutantları' adı verilmektedir. Yine 'a' determinantı mutantları HBsAg'nin antijenik yapısındaki değişiklik nedeniyle HBsAg tanısında kullanılan bazı testler tarafından saptanamamaktadır. Bu durum da 'tanısal kaçak mutantlar' olarak adlandırılırlar (13).

### **2.6.3. P geni mutasyonları**

Revers transkriptaz inhibitörü olan nükleotid/nükleozit analogu ilaçların kullanımından sonra görülmeye başlanmıştır. P geni en uzun gendir ve genomun

%80'ini kapsar. Kodladığı polimeraz proteini pgRNA (pregenomik RNA)'dan sentezlenir.

Polimeraz proteini multifonksiyonel bir proteindir, revers transkriptaz, DNA polimeraz ve RNaz H aktivitelerine sahip bölümleri bulunur. Enzimin revers transkriptaz aktivitesi gösteren C katlantısında yer alan tirozin (Y), metiyonin (M), aspartat (D), aspartat (D) aminoasitlerinden oluşan bölümü (YMDD motifi) nükleotid bağlayan katalitik bölgesidir. Lamivudin kullanımı ile bu bölgedeki metiyoninin izolösin veya valine değişmesi (rtM204I veya rtM204V) virüsün replikasyon kapasitesini düşürür. Tedaviye devam edildiğinde başka mutasyonlar da gelişir. YMDD motifinde değişikliğe neden olan mutasyonlar lamivudin yanında famsiklovir ve adefovir gibi revers transkriptaz enzim inhibitörlerine de direnç gelişmesine neden olmaktadır.

HBV'de lamivudin direnci, tedavinin birinci yılında %14-32, dördüncü yılında %70 olarak bildirilmiştir (13).

#### **2.6.4. X geni mutasyonları**

Viral genom transkripsiyonu için gerekli olan X proteini HCC gelişmesinden de sorumlu tutulmaktadır. X proteini, birçok prom bölgeyi aktive etmekte, viral RNA'nın stabilitesini sağlamakta, hücre büyümesini ve apoptotik hücre ölümünü etkilemektedir. Sitoplazmada mitojenik sinyal yolunu aktive etmekte, çekirdekte ise transkripsiyon faktörlerini etkileyerek hepatokarsinogenezi desteklemektedir (51, 13).

Bazal kor promotör bölgesindeki delesyonlar eksik HBx sentezine yol açar. Bu mutasyonda p53 bağımlı transkripsiyonel baskılama bölgesi kaybolduğundan, HCC oluşumunda önemli olabilir (13).

#### **2.7. Hepatit B Virüsünün Epidemiyolojisi**

HBV enfeksiyonu; küresel bir halk sağlığı problemidir ve dünyada en sık görülen bulaşıcı hastalıklardan birisidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO); dünya popülasyonunun 1/3'ünden daha fazlasının HBV ile enfekte olduğunu ve HBV taşıyıcılığının çoğunun Asya ve Afrika'da (yüksek prevalans > %8) yaşadığını tahmin etmektedir. *Şekil 5*'de dünyanın farklı bölgelerindeki HBV enfeksiyon sıklığı

gösterilmektedir. WHO, bu enfeksiyonun yılda 1 milyondan fazla ölüme yol açtığını tahmin etmektedir (1).

HBV enfeksiyonunun görülme sıklığı ve yaygın bulaşma yolu; dünyanın farklı bölgelerinde değişiklik göstermektedir. Buna göre dünya ülkeleri üç gruba ayrılır:

1. Yüksek endemisite ülkeleri: Toplumda HBsAg pozitifliği %8'in üzerindedir. Dünya nüfusunun %45'i bu ülkelerde yaşamaktadır. Japonya ve Hindistan dışında kalan birçok Asya ülkesi, Amazon bölgesi, Pasifik Adaları, Afrika ülkeleri, Alaska, Avustralya ve Yeni Zelanda yerlileri bu grupta bulunur.

2. Orta endemisite ülkeleri: Dünya nüfusunun %43'ü HBsAg pozitifliğinin %2-7 arasında olduğu endemisite ülkelerinde yaşamaktadır. Kuzey Afrika ülkeleri, Ortadoğu ülkeleri, Türkiye'nin de içinde yer aldığı Akdeniz Havzası, Doğu Avrupa ve Rusya bu grupta yer alır.

3. Düşük endemisite ülkeleri: Toplumda HBsAg pozitifliği %2'nin altındadır. Dünya nüfusunun %12'si bu ülkelerde yaşamaktadır. ABD, Kuzey ve Batı Avrupa ülkeleri, Avustralya bu gruptadır (13).

Orta endemisite ülkeleri arasında yer alan ülkemizde HBsAg pozitifliği %1-14,3 arasında bildirilmiştir. İstanbul ve İzmir gibi batı illerinde %3-4,5 gibi daha düşük oranda HBsAg pozitifliği bildirilirken; Diyarbakır, Elazığ ve Van gibi Güneydoğu ve Doğu Anadolu illerinden %8-14,3 gibi yüksek oranlar bildirilmiştir (13).

Türkiye'de 1989-2004 yılları arasındaki 16 yıllık verilerle kan donörlerinde HBsAg pozitiflik oranlarının ve yıllara göre değişimin değerlendirildiği bir çalışmada toplam 6.240.130 donörde HBsAg pozitifliği % 4.19 olarak saptanmış; bu oranlar 1989 yılında % 4.92, 1991 yılında % 5.23 iken 2004 yılında % 2,1 olarak bildirilmiştir. Ülkemizin değişik bölgelerinde yapılan kan donörlerinin verilerinin değerlendirildiği çeşitli araştırmalarda da bu düşüş gözlenebilmektedir (52).

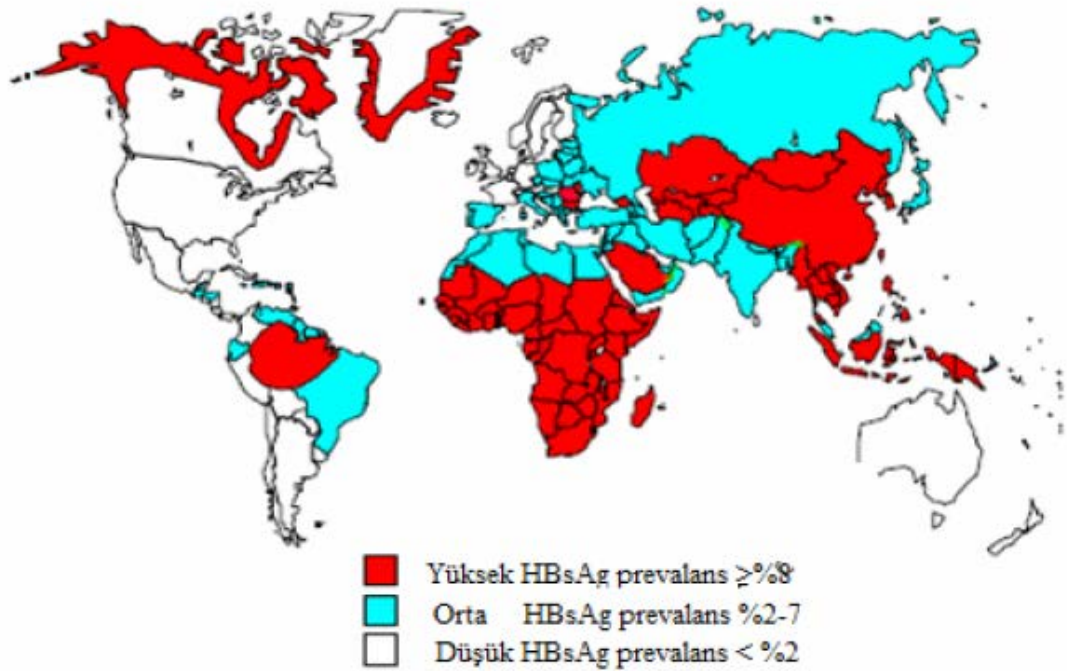
Yüksek risk grubu içerisinde olan sağlık çalışanları arasında yapılan değişik çalışmalar HBV ile ilgili tetkik sonuçlarının normal popülasyondan çok farklı olmadığını göstermektedir.

Ülkemizde HBV aşılması tüm sağlık çalışanlarına 'Genişletilmiş Bağışıklama Programı' çerçevesinde rutin olarak ve ücretsiz yapılmaktadır.

Bu uygulamanın özellikle 2003 yılından itibaren yaygınlaşmasıyla sağlık çalışanlarının aşılama oranları da giderek artış göstermektedir.

Son on yıl içinde yapılan çalışmalarda sağlık çalışanlarında HBsAg pozitifliği %0,7-4,4 arasında bildirilmiştir (52).

Hepatit B virüsünün bulaşması için gerekli koşullar; konağın bağışık ya da immün (aşılı) olmaması, enfeksiyöz bir kaynak varlığı ve deri ya da mukoz membran yaralanmasıdır. HBV, vücut sıvılarıyla (serum, semen, tükürük gibi) bulaşabilir ama kan ve seröz eksudalarda en fazla; tükürük, semen ve vajinal sekresyonlarda ise daha düşük düzeyde bulunmaktadır ve bu nedenle de günlük yaşam aktiviteleri ile bulaşmanın pratik olarak söz konusu olmadığı kabul edilmektedir. Dövme, piercing, akupunktur, diyaliz veya ortak enjektör kullanımı da bulaşma kaynağı olabilir (52).



Şekil 5: HBV'nin dünya üzerindeki dağılımı (CDC verileri)

### **2.7.1. Korunma**

HBV enfeksiyonundan korunmak ve hastalık yayılımını önlemek amacıyla davranış değişiklikleri, pasif immünoprofilaksi ve aktif immünoprofilaksi olmak üzere üç temel strateji geliştirilmiştir (53, 54).

Kan ürünleri tarama yöntemlerinde gelişme sağlanması, gebe taramaları, güvenli cinsel yaşam için eğitim verilmesi, damar içi uyuşturucu bağımlılarının rehabilitasyonu ve eğitimi, mesleki HBV karşılaşmalarının engellenmesi için tedbirler alınması, hastalığın bulaşını azaltmada etkilidir. Pasif immünoprofilaksi, HBV'li anneden doğan yenidoğanlara, HBsAg pozitif olan kan ve vücut sıvılarıyla perkutan ve mukozal temaslılar, HBsAg pozitif kişi ile cinsel temasta bulunanlar, karaciğer transplantasyonlu hastalara HBIG kullanılır (51,13, 53, 54).

Aktif immünoprofilaksi ise sadece risk gruplarının aşılması orta ve yüksek düzeyde endemik bölgelerde virüsün genel insidansı üzerine olumlu bir etki göstermemiştir.

Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü 1995 yılında HBV taşıyıcı prevalansına göre yüksek endemisiteye sahip ülkelere, 1997 yılında ise diğer tüm ülkelere HBV aşısını ulusal aşı programlarına almalarını önermiştir. Ülkemizde ise rutin aşı programına ilk kez Ağustos 1998 tarihinde başlanmıştır (55).

HBV aşısı standart uygulama şeması intramuskuler olarak 0., 1., ve 6. aylarda üç doz olarak erişkinlerde 20 mikrogram, çocuklarda 10 mikrogram'dır. HBV aşısının etkinliği anti HBs gelişmesi ile izlenebilmektedir (51, 56, 53, 54).

### **2.8. Hepatit B Virüs İnfeksiyonu**

Hepatit B enfeksiyonunun seyri son derece değişkendir: HBV enfeksiyonu, asemptomatik enfeksiyondan, karaciğer yetmezliği ve ensefalopatinin eşlik ettiği fulminan hepatite kadar değişebilen farklı klinik tablolar gösterebilir. Hastalar tamamen iyileşebilir, kronik hepatite ilerleyebilir veya fulminan hepatit gelişip yaşamlarını yitirebilirler. Klinik olarak belirtili hastalık yaşa paralel artarken, taşıyıcılık tersine azalır. HBV enfeksiyonu çocuklarda ve gençlerde yetişkinlere oranla daha hafif veya asemptomatik seyretmektedir. Yapılan çalışmalarda dört yaşın altındaki çocuklarda %90, 30 yaşın üzerindeki yetişkinlerde ise 2/3 oranında asemptomatik geçirildiği bildirilmiştir. HBV enfeksiyonu geçiren kişilerin % 5'inde

enfeksiyon kronikleşebilmekte, %0,5'inde de siroza ilerleyebilmektedir. Akut HBV enfeksiyonu hikâyesi olmayan kişilerde yüksek oranda taşıyıcılık bulunması hastalığın daha çok subklinik geçirildiğinin diğer bir göstergesidir ve semptomsuz olan bu olgularda kronikleşme eğilimi daha fazladır (57, 58).

HBV enfeksiyonunda klinikte şu tablolar görülür.

### **2.8.1. Akut Enfeksiyon**

HBV inkübasyon dönemi, alınan virüs miktarı ve kişinin immünite durumuna bağlı olarak 45-120 gün arasında değişir. Akut enfeksiyon; asemptomatik enfeksiyon, sarılıklı kolestatik hepatit, nadiren fulminan hepatit şeklinde farklı ağırlıkta seyredebilir.

Virüsün alınmasından altı hafta sonra HBsAg ve diğer aktif viral replikasyon göstergeleri pozitifleşir, biyokimyasal testlerde bozulma ve klinik belirtiler ortaya çıkar. Okul öncesi çocuklarda genellikle asemptomatiktir. Erişkinlerde ise %25 oranında yorgunluk, iştahsızlık, kas ağrıları, hafif ateş, kokulardan rahatsız olma, bulantı ve/veya sarılık ve hepatomegali gibi hepatik fonksiyon bozukluğu belirtileri görülür.

Nadiren fulminan seyreden enfeksiyonda hepatik ensefalopati, hepatorenal sendrom ve kanama diyatezi ile akut karaciğer yetmezliği gelişir. Fulminan hepatitte mortalite %75'in üzerindedir (13).

Karaciğer hasarının klasik ikterik semptomları; sarılık, koyu renkli idrar, açık renkli dışkı gibi semptomlar ortaya çıkar (59).

Akut HBV enfeksiyonu geçirenlerin %10-20'sinde antijen-antikor komplekslerine bağlı olarak ekstrahepatik belirtiler görülür. Bunlar; serum hastalığı benzeri sendrom, poliarteritis nodosa, membranoproliferatif glomerulonefrit ve çocuklarda papüler akrodermatitdir. Birçok olguda yeterli immün yanıt ile virüs karaciğerden temizlenir ve iyileşme görülür. Oluşan anti-HBs antikorları kişiyi yeni enfeksiyonlardan korur (13).

### **2.8.2. Kronik Enfeksiyon**

Akut enfeksiyon sonrasında hastaların bir kısmında virüsün karaciğerden temizlenmesi başarısızdır. Bu kişilerde HBsAg pozitifliğinin altı ayı aşması, kronik

enfeksiyon olarak kabul edilir. Anti-HBs antikorları saptanamaz. Enfeksiyonun kronikleşmesi ile yaş ve immün sistemin durumu arasında sıkı bir ilişki vardır. Doğumda enfeksiyonu alan bebeklerde kronikleşme %80-90, altı yaşın altında enfekte olanlarda %30, erişkinlerde ise %5-10 civarındadır (13).

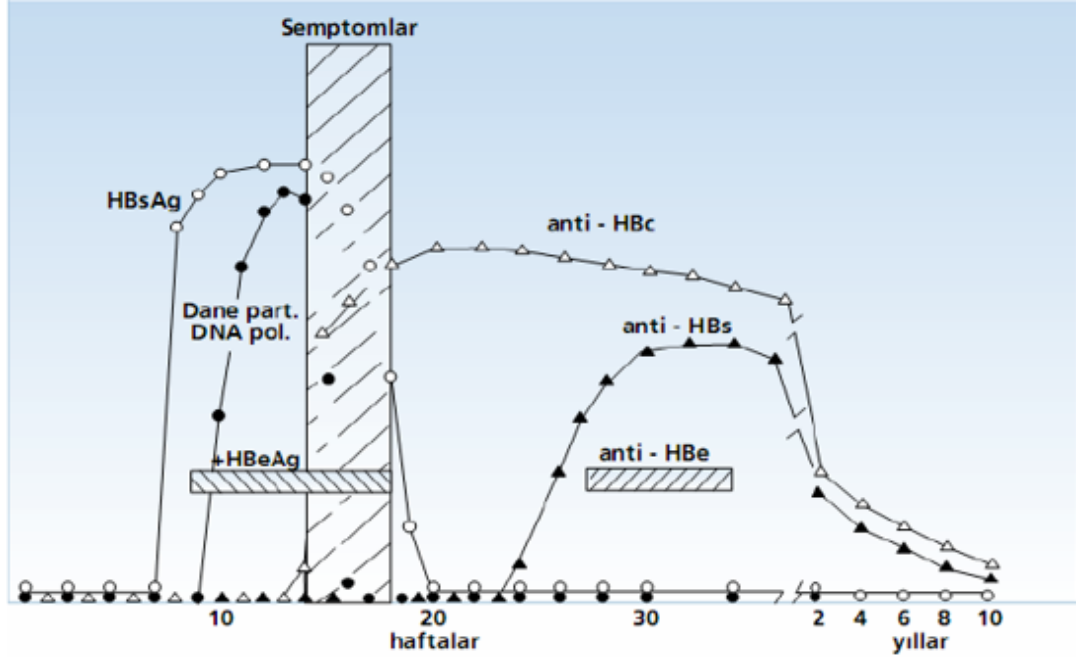
Hastaların aminotransferaz enzimleri biraz yüksek olabilir. Karaciğer biyopsisinde, hepatoselüler nekrozun eşlik ettiği aktif inflamasyon ve bazen fibrozis saptanabilir. Siroz geliştiğinde semptomlar genellikle daha belirgin hale gelir. Kronik HBV enfeksiyonlu ve sirozlu hastaların %12-55'inde hepatoselüler karsinom gelişir. Karaciğer kanseri ve siroza bağlı ölüm sıklığı direk yaşla orantılı olarak artar; bununla birlikte HBV enfeksiyonuna bağlı HCC gelişimi için siroz aşaması her zaman gerekli değildir (1).

## **2.9. HBV Enfeksiyonunun Tanısı**

### **2.9.1. Serolojik Tanı**

HBV'ye ait antijenlerin ve antikorların hasta serumunda saptanması; enfeksiyonun özgül tanısı için yaygın kullanılan yöntemlerdir. Virüse ait HBsAg ve HBeAg ticari olarak bulunan birçok 'enzyme immunoassay' (EIA) kiti aracılığıyla saptanabilir. Viral HBcAg dolaşıma katılmadığı ve sadece hepatositler içinde bulunduğu için serolojik olarak saptanamamaktadır. Viral antijenlere karşı gelişen antikorlar (anti-HBc IgM, total anti-HBc veya anti-HBc IgG, total anti-HBs ve anti-HBe IgG) yine ticari kitler kullanılarak saptanabilir. Bu testler; HBV enfeksiyonunun akut ve kronik dönemlerinin ayrılmasında, enfektivitenin değerlendirilmesinde, immünitinin araştırılmasında, kan ve organ vericilerinin taranmasında rutin olarak kullanılmaktadır (13).





Şekil 6 : Akut HBV enfeksiyonunun seyri (60)

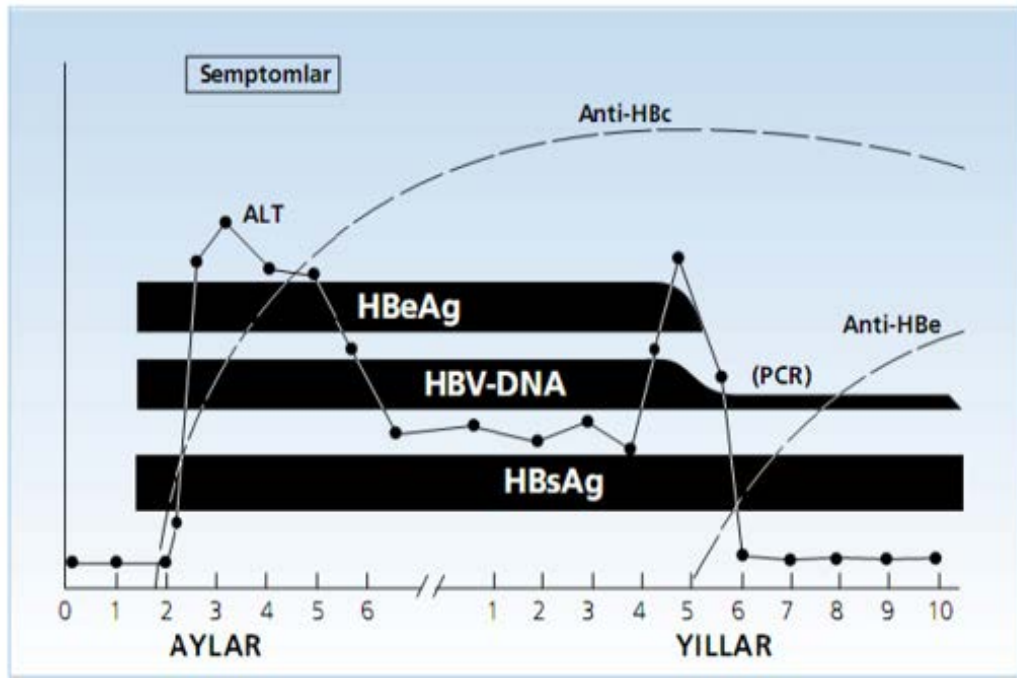
Tablo 2: HBV enfeksiyonun farklı dönemlerinde serolojik göstergeler (61)

Enfeksiyon Dönemleri	HBV DNA	HBsAg	HBeAg	Anti-HBc		Anti-HBe	Anti-HBs
				Total	IgM		
Erken inkübasyon	+	-	-	-	-	-	-
Geç inkübasyon	+	+	+ veya -	-	-	-	-
Akut enfeksiyon	+	+	+	+	+	-	-
HBsAg-negatif akut enfeksiyon	-	-	-	+	+	-	-
Kronik enfeksiyon	+	+	+	+	+ veya -	-	-
Sağlıklı HBsAg taşıyıcısı	-	+	-	+	+ veya -	+	-
Yakın geçirilmiş enfeksiyon	+ veya -	-	-	+	+	+	+ veya ++
Uzak geçirilmiş enfeksiyon	-	-	-	-	-	-	+ veya -
Aşı yanıtı	-	-	-	-	-	-	+

Enfeksiyonun tanısında ve izlenmesinde kullanılan serolojik belirteçler *Tablo 2*'de gösterilmiştir.

Tipik bir akut HBV'de ilk antikor yanıtı anti-HBc IgM (core-M) oluşmasıdır. Anti-HBc IgM 6 ay civarında kaybolur. HBV ile temastan birkaç hafta sonra serumda HBsAg ortaya çıkar. Ardından anti-HBc total yükselir. Klinik ise serumda HBsAg'nin ortaya çıkışından ortalama 4-10 hafta sonra belirginleşir.

Viral replikasyonun en iyi göstergesi HBV DNA'dır. HBsAg'nin ortaya çıkmasından önceki üç haftaya kadar olan dönemde saptanabilmektedir.



*Şekil 7: Kronik HBV enfeksiyonunun seyri (60)*

HBeAg'de replikasyonun varlığı hakkında sınırlı bilgi verir. Akut olgularda HBeAg serumda HBsAg ile yaklaşık olarak hemen hemen aynı dönemde ortaya çıkar ve HBsAg'den önce kaybolur. Bu antijen varlığı, viral partiküllerin, serumda HBV-DNA ve DNA polimeraz enziminin bulunduğunu gösterir. Yani HBeAg aktif replikasyon ve enfektivitenin önemli bir işaretidir. Bu antijen kaybolurken yerini iyileşmeye doğru gidişi gösteren özgül antikor olan anti-HBe'ye bırakır (62).

## **2.9.2. Direk Tanı Metotları**

### **2.9.2.1. Hücre Kültürü**

Sağlıklı erişkin ve fetal insan hepatositlerinin primer kültüründeki HBV büyümesinin gösterilmesine rağmen, uzun bir dönemde seri üretim başılamamıştır. Bundan dolayı tanı testi olarak HBV kültürü yapılmamaktadır (61).

### **2.9.2.2. Viral Antijenlerin Gösterilmesi**

HBsAg ve HBeAg serumda tespit edilmesinin yanında, doku örneklerinde de immünoperoksidaz ve immünofloresan boyalar kullanılarak viral antijenler gösterilebilir.

Hepatositler içerisinde HBsAg sitoplazmada bulunurken, HBcAg ise genellikle çekirdekte saptanır. Virüs replikasyonunun aktif olduğu dönemlerde HBcAg sitoplazmada da saptanabilir. Hızlı sonuç alınması ve fazla örneğe uygulanması zor olduğu için klinik laboratuvarlardan ziyade, araştırma amacına yönelik kullanılan yöntemlerdir (63).

## **2.9.3. Viral Nükleik Asitlerin Tespiti (Moleküler Tanı)**

Günümüzde, hepatit B virus (HBV) enfeksiyonunun tanı ve prognozunun araştırılmasında, virüse ait antijenlerin ve bunlara karşı oluşan antikorların tespiti ile yapılan serolojik yöntemlerin yetersiz olduğu benimsenmektedir (64).

HBV DNA viral replikasyon için bir göstergedir. Saptanması HBV enfeksiyonunun değerlendirilmesi ve tedavinin izlenmesinde önemli rol oynar. DNA araştırılması klinik evreleme, tedavinin izlemi, tedavi sırası ve sonrasında relapsların belirlenmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte HBV DNA testi, tedavi düşünülen kronik HBV enfeksiyonlu hastalarla sınırlı tutulmalıdır. HBV DNA testinin tüm HBsAg pozitif hastalara uygulanması önerilmemektedir.  $10^5$  ve üzeri genomik denklikteki değerler, kronik HBV enfeksiyonu için tanı koydurucu değerler olarak belirlenmiştir (61).

HBV-DNA'nın saptanmasında hibridizasyon ve PCR yöntemleri geliştirilmiştir. Hibridizasyon metodu HBV genomuna uygun komplementer DNA problemlerinin kullanılması esasına dayanır.

Bu sayede serumda tespit edilen viral nükleik asitlerin miktarı da belirlenebilmektedir. Hibridizasyon yöntemi kullanılarak serumdaki 5- 2000 pg/ml aralığındaki HBV-DNA miktarı ölçülebilmektedir.

PCR yöntemi daha duyarlıdır ve serumda bulunan HBV DNA'nın amplifiye edilmesi sonucu viral nükleik asitler saptanır. Bu yöntemde serumdaki 10 kopya/ml HBV-DNA miktarları bile tespit edilebilmektedir (65, 66).

## 2.10. Gizli Hepatit B Virüs İnfeksiyonu

Hepatit B Virüs (HBV) enfeksiyonunun iyileşmesi, klasik bilgiler içerisinde Hepatit B yüzey antijeninin (HBsAg) kaybolması ile birlikte hepatit B virüsünün deoksiribonükleik asidinin (DNA) negatifleşmesi şeklinde tanımlanır (51).

Aynı zamanda akut kendini sınırlayan, kronik enfeksiyonda veya başarılı bir HBV tedavisi sonrası HBsAg'nin kaybolmasından sonra bazı hastaların serum, periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH) veya karaciğer dokusunda düşük seviyelerde HBV DNA kalabilir. İlk defa *Hoofnagle ve ark.* (67)'nin 1978 yılında yaptıkları çalışmada HBsAg ve anti-HBs negatif, anti-HBc IgG pozitif belirteçlere sahip bir durumda iken, kan transfüzyonu sonrasında HBV enfeksiyonu geliştiğini bildirmişlerdir.

Sonradan yapılan çalışmalarda izole anti-HBc IgG pozitif olan hastaların çoğunda HBV DNA pozitifliği belirlenmesi, yeni bir durumu ve bu tip hastaların HBV enfeksiyonunu bulaştırma riskinin olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu klinik durum gizli (occult) hepatit B virüs enfeksiyonu olarak tanımlanmıştır (68, 9).

Bu durum, kriptojenik hepatit ve hepatoselüler karsinoma olgularında daha sık bildirilmekte; aynı zamanda hepatit C virus (HCV) veya insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile enfeksiyon, hemodiyaliz ve transplantasyon uygulanması ve intravenöz ilaç bağımlılığı gibi faktörlerin de etkili olabildiği bildirilmiştir (8, 9).

Bu hastaların serumunda HBV-DNA düzeyi genel olarak  $10^4$  kopya/ml'den düşüktür ( $10^{2-3}$  kopya/ml serumda, 0,01-0,1 kopya/karaciğer hücresinde) (68,47).

Gizli Hepatit B (GHB)'li bireylerde intrahepatik HBV DNA, serum HBV DNA seviyesinden yüksek olması, karaciğerin HBV replikasyonunda merkez olması noktasından açıklanabilir. Buna karşılık GHB'de serumda HBV DNA saptanırken, intrahepatik olarak saptanamayabilir. Bu durum GHB'nin geçiş fazıdır veya HBV replikasyonu bilinmeyen bir lokalizasyonda sürmektedir (68, 69).

HBsAg negatif, PCR yöntemiyle HBV-DNA pozitif olan hastaların serumları şempanzelere verilmesi sonucu akut hepatit geliştiği görülmüş, hem insanlarda hem de şempanzelerde akut hepatit gelişmesinden sonra alınan DNA örnekleri karşılaştırıldığında insana ve şempanzeye ait DNA'larının aynı olduğu görülmüştür (70).

Bu çalışmanın sonucunda gizli hepatit B enfeksiyonunun bulaş riskinin olduğu görülmüştür. Kullanılan hibridizasyon yöntemleriyle  $10^4$  kopya/ml'nin altındaki HBV DNA miktarları tespit edilemez. Bu yüzden gizli HBV enfeksiyonu tanısı için hibridizasyon yöntemlerinden daha duyarlı vir yöntem olan PCR yöntemi kullanılmaktadır (47).

Gerçek zamanlı PCR yönteminin geliştirilmesiyle amplifikasyon reaksiyonu sırasında oluşan ürünü her siklus sonrasında ölçerek kantitasyon yapan bu yöntem sayesinde geniş aralıklarla ve daha doğru kantitasyon yapabilmektedir (13).

## **2.11. Gizli Hepatit B Enfeksiyonu Oluşum Mekanizmaları**

Gizli hepatit B enfeksiyonu patogenezi hakkında çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Bunlar içinde en önemlileri hepatit B virüsünün S geninde mutasyon, HBV DNA'nın genoma integrasyonu, periferik kandaki mononükleer hücrelerde (PKMH) HBV enfeksiyonu, HBV içeren immün kompleks oluşumu, kişinin immün cevabının değişmesi ve HBV'nin diğer virüslerle koenfeksiyonu olarak tanımlanmıştır (68).

### **2.11.1. S geni mutasyonu**

HBV genomunun pre-S/S bölgesinde meydana gelen mutasyonlar HBsAg'nin antijenitesinin azalması sonucu immün saldırıdan korunmasına ve anti-HBs oluşumunda azalmaya neden olur (68).

Pre-S/S mutasyonlarının yanında, bazı donörlerde de “a” determinantında mutasyonlar gösterilmiştir. Bunun sonucu HBsAg tespit edilememiştir. Bu serumlarda HBsAg negatif, anti-HBc pozitifken, yüksek düzeyde HBV saptanmıştır (71).

S bölgesinde bulunan 124-147 aminoasitleri anti-HBs antikor cevabı oluşumu için dominant B hücre epitopu içermektedir. Bu bölgeye bir aminoasit eklenmesi anti-HBs antikor üretimini durmasına, HBV aşısı sonrasında anti-HBs antikorunun oluşmamasına veya gizli hepatit B gelişmesine yol açar (71, 72). PreS1 delesyon mutasyonu ile GHB gelişimi arasında da ilişki vardır (68).

Diğer bir S geni mutasyonu ise, pre-S2/S bölgesinde, nükleotidler arasında bulunan yüzey antijeni promoter bölgesinde tespit edilen delesyonlardır. Bu delesyonlar S antijeninin ekspresyon düzeyinde ve büyük-küçük S proteini oranlarında değişiklik yaparak patogeneze rol oynayabilmektedir. Bunun dışında polimeraz geninde alternatif başlangıç kodonu oluşturan mutasyonlar da tespit edilmiştir (8).

### **2.11.2. HBV DNA'nın genoma integrasyonu**

Okült HBV enfeksiyonlu hastalarda genoma entegre veya serbest episomal HBV-DNA molekülleri gösterilmiştir (73).

HBV DNA'nın genoma integrasyonu virüs DNA zincirinin yeniden düzenlenmesine neden olabilir ve bunun sonucunda HBsAg ekspresyonu azalabilir veya durabilir. Gizli HBV enfeksiyonunda genoma entegre olmuş veya serbest episomal HBV DNA molekülleri tespit edilmiştir. Gizli HBV enfeksiyonu olan HCC'lilerde de HBV entegrasyon sıklığı fazla çıkmıştır (74).

### **2.11.3. Periferik kan mononükleer hücrelerinin HBV ile enfeksiyonu**

Akut, gizli ve kronik HBV enfeksiyonlarında PKMH'de HBV-DNA'nın sık bulunduğu bildirilmiştir (75). HBV'ye bağlı karaciğer hastalığı sonucu karaciğer nakli yapılmış hastalarda yüksek doz hiperimmünglobulin verilmesi serumda HBsAg'nin ve karaciğerde HBV-DNA'nın negatif kalmasına yol açar. Ayrıca bu hastalarda PKMH'de HBV-DNA'nın varlığı tespit edilmiştir (76).

#### **2.11.4. HBV içeren immün kompleksler**

Akut HBV enfeksiyonundan sonra anti-HBs oluşsa bile, kanda HBV partiküllerinin varlığı immunkompleks şeklinde devam edebilir. HBV içeren immunkomplekslerin devamlılığını ne şekilde sürdürdüğü bilinmemektedir. Kronik HBV enfeksiyonu sonrasında HBsAg negatifleşen HBV-DNA PCR ile pozitif olarak belirlenen gizli HBV enfeksiyonlu hasta serumlarında ise HBV içeren immün kompleksler bulunmamıştır (77).

#### **2.11.5. Koinfeksiyon:**

Kronik HCV ve HBV enfeksiyonlarının birlikte olduğu zaman hastaların HBV DNA düzeyinin daha düşük olduğu, aynı zamanda HBsAg negatifliğinin de daha sık görüldüğü bildirilmiştir (78). Yapılan çalışmalarda HCV “core” proteininin HBV replikasyonunu engellediği gösterilmiştir (79).

#### **2.11.6. HBV genotipi**

HBsAg pozitif olan hastaların % 53’ü genotip A ile enfekte olmasına rağmen, gizli hepatit hastalarının % 61’i genotip D ile infektidir. Bu durum ise genotip farklılıklarının gizli hepatit gelişiminde rolü olduğunu gösterir (80).

#### **2.12. Gizli HBV Enfeksiyonunun Klinik Önemi**

Gizli hepatit B’nin klinik önemi halen tam olarak bilinmemektedir. İlk kez HCC’li ya da kronik hepatitli hastalarda tanımlanmış olması karaciğer hastalıkları etyolojisinde yeri olabileceğini düşündürmektedir. Fakat daha çok kabul edilen görüş, gizli hepatit B taşıyıcılarının asemptomatik olduğu ve sadece tarama programları ile belirlenebilecekleridir (81).

Yapılan bir çalışmada 19 hastada gizli hepatit B tespit edilmiş ve bu hastaların serum AST ve ALT değerleri normal olarak belirlenmiştir (82).

Başka bir çalışmada ise serum ALT seviyelerinin yüksek olması nedeniyle araştırılan 19 hastada ise gizli hepatit B saptanmıştır (83).

HBsAg ve anti HCV negatif olan sirozlu hastalar üzerinde yapılan araştırmada gizli hepatit B enfeksiyonu olan ve olmayan hastalar arasında HCC gelişimi yönünden anlamlı farklılık saptanmıştır. Bunun sonucunda gizli hepatit B enfeksiyonunun HCC gelişimi açısından bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (84).

HCV ve gizli HBV enfeksiyonu birlikteliği olan bireylerde karaciğer hastalığı daha ciddi bir seyir gösterir. Bu hastalarda daha çok inflamasyon ve daha yüksek histolojik aktivite vardır. Ayrıca ALT düzeyi daha yüksek seyretmektedir (85). Bir alışmada 200 HCV (+) hastadan 33'ünde HBV DNA (+) saptanmıştır (79).

Gizli hepatit B enfeksiyonunun bulaşıp bulaşmayacağı; diğer viral enfeksiyonlarda olduğu gibi HBV enfeksiyonunun seyri de alınan viral yüke ve hastanın immün durumuyla yakından ilişkilidir. Genel olarak benimsenen görüş; alınan kanda HBV-DNA varsa enfeksiyon oluşabilir şeklinindedir. Rutin yapılan HBsAg taramaları sonucu HBV enfeksiyonu bulaşma riski 1/63.000'dür (86).

Yapılan alışmalarda, HIV (+) hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonunun prevalansı gittikçe artmaktadır. Bir kısım çalışmalarda HIV (+) HBs Ag (-) hastalarda HBV DNA (+)'liği %85'lere çıkmaktadır. *Mphahlele ve ark.* (87)'nin HBV'nin endemik olduğu Güney Afrika'da yaptıkları bir çalışmada HIV (+) hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonunun prevalansı %22,1 olmasına rağmen, HIV (-) hastalarda bu oran %2,4 olarak bildirilmiştir.

HBsAg negatif hemodiyaliz hastalarında HBV-DNA pozitifliği % 0 ile % 50 gibi çok farklı aralıkta değişen oranlarda bildirilmektedir (88).



Tablo 3: Gizli hepatit B enfeksiyonu için risk altında olan gruplar (74)

Klinik Gruplar	Gizli HBV Enfeksiyon Sıklığı
Hemofili hastaları	%53
İntravenöz uyuşturucu kullanıcıları(HCV-RNA+)	%45
Hemodiyaliz hastaları (HCV-RNA+)	%36
Viral etiyojolojiye sahip olmayan kronik karaciğer hastaları	%13-71
HIV (+) pozitif hastalar	%20
Kriptojenik siroz	%10-30
İmmünsüpresif hastalar	%11
Diabetes mellitus	%11
HBsAg taşıyıcıların aile bireyleri	%10
Hepatoselüler kanser	%5-6
Hemodiyaliz hastaları (HCV-RNA-)	%2,7

Sonuç olarak, gizli hepatit B enfeksiyonunun tanımlanması için anahtar test HBV-DNA ‘nın saptanmasıdır. Son yıllarda PCR yöntemi ve diğer moleküler yöntemlerin gelişmesi gizli hepatit B enfeksiyonunun saptanmasına yardımcı olmuştur. Gelecekte yapılacak çalışmalar ile gizli hepatit B enfeksiyonunun klinik önemi ve patogenezinin aydınlatılması ümit edilmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; Tokat Devlet Hastanesine Diyaliz Merkezi ve Tokat Özel Gökmedrese Diyaliz Merkezine başvurmuş, HBsAg negatif hemodiyaliz uygulanan hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonunun varlığı araştırıldı. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan izin alındı (Proje No:13-KAEK-052).

#### 3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun seçimi

Tokat Devlet Hastanesine Diyaliz Merkezi ve Tokat Özel Gökmedrese Diyaliz Merkezinde hemodiyaliz alan, HBsAg negatif toplam 160 hasta rastgele seçilerek çalışmaya dahil edildi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Polikliniğine ve Tokat Devlet Hastanesi Nefroloji Polikliniğine başvuran kronik böbrek yetmezliği olan, fakat hemodiyaliz uygulanmayan, HBsAg negatif 28 hasta rastgele seçilerek kontrol grubu olarak belirlendi. Bu çalışmaya toplam 188 hasta dahil edildi. Aydınlatılmış onam formları ile çalışma hakkında hastalara bilgi verildi ve onayları alındı. Hastalara ait bilgiler formlara kaydedildi.

#### 3.2. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması

Hastaların aylık periyodik kontrol tetkiklerinde; HBV DNA, hepatit belirteçleri, CRP (C-reaktif protein), AST (Aspartat aminotransferaz) ve ALT (Alanin aminotransferaz) seviyelerini belirlemek amacıyla 5'er ml venöz kan örnekleri üç farklı tüpe alındı.

Hepatit B virus belirteçleri (HBsAg, anti-HBcAg, anti-HBs) Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, ticari ELISA kitleri (Abbott ARCHITECT Qualitative Reagen Kit) ve ELISA cihazı (Abbott ARCHITECT i2000 SR) kullanılarak, CRP (SIEMENS CardioPhase hsCRP) kiti ve SIEMENS BN II cihazı kullanılarak çalışıldı. Aynı şekilde, aspartat aminotransferaz (AST) , alanin aminotransferaz (ALT), (Aspartate aminotransprase/ Alanine aminotransprase Roche Cobas INTEGRA/cobas c system ) test kitleri kullanılarak Roche Cobas 501 cihazı ile Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışıldı. Aspartat aminotransferaz için normal değer

aralıkları 10-38 U/L, alanin aminotransferaz için normal değer aralıkları 7-35 U/L, CRP için 0 – 5 mg/L olarak kabul edildi.

### **3.3. HBV DNA İçin Kullanılan Sarf Malzemelerive Cihazlar**

- Elüsyon tüpleri
- Örnek tüpleri
- Steril pipet uçları
- 10 µl, 100 µl ve 1000µl otomatik mikropipetler
- Soğutmalı santrifüj cihazı
- Mikrosantrifüj cihazı
- Derin dondurucu (-40 C<sup>0</sup> ve -20 C<sup>0</sup>)
- HBV İzolasyon Cihazı ( Magnesia 16 Anatolia Geneworks, Türkiye)
- Real-Time PCR Cihazı ( Montania 483 Anatolia Geneworks, Türkiye)

#### **3.3.4. HBV DNA Kitleri**

- HBV DNA izolasyon kiti (16 / 201 Viral Nükleik asit izolasyon kiti); Proteinaz K, internal kontrol ve carrier RNA içerir.
- Real-time PCR kiti (Bosphore Quantification Kit V<sub>2</sub>); PCR Mix, standart 1, standart 2, standart 3, standart 4, pozitif kontrol, internal kontrol ve dH<sub>2</sub>O( negatif kontrol için) içerir.

### **3.4. Prosedür**

#### **3.4.1. Örnek Hazırlama, Saklama ve Taşıma**

Klinik örnekten serum izole etmek için kan antikoagülan içermeyen steril vacutainer tüplerine alındı. Kan alma işlemi için, sadece steril materyal kullanıldı. Serumu ayırtırmak için kanın alındığı tüp 800-1600 x g'de 20 dk. santrifüjlendi. Ayırtırılan serum polipropilen tüplere alındı ve -20 C<sup>0</sup> de test prosedürü uygulanana dek saklandı.

### **3.4.2. Kit Bileşenleri**

#### **3.4.2.1. PCR Master Mix**

HotStarTaq DNA Polimerazı: HotStarTaq DNA Polimerazı *Thermus aquaticus*'tan izole edilmiş, *E.coli*'ye klonlanmış 94 kDa'luk rekombinant DNA polimerazın modifiye edilmiş bir formudur. Enzimin aktif bir formda verilir ve 95 °C'de 15 dakikalık bir inkübasyon sonrası aktif hale gelir. Bu özelliği sayesinde hatalı bağlanan primerlerin ya da primer-dimerlerin önüne geçilir ve daha yüksek PCR spesifitesi ve kantitasyon hassasiyeti sağlanır.

PCR Tamponu: Tris-Cl, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 8 mM MgCl<sub>2</sub> içerir, 20 °C'de pH 8,7 dir. dNTP Karışımı: Ultrasaf dATP, dGTP, dCTP ve dTTP/dUTP içerir. Deteksiyon Mix 1: HBV genomuna özgü forward ve reverse primerler ve iki ucu işaretli prob içerir. Deteksiyon Mix 2: internal kontrole özgü forward ve reverse primerler ve iki ucu işaretli prob içerir.

#### **3.4.2.2. İnternal Kontrol**

İnsan genomundan elde edilmiş sentetik bir DNA molekülü olan internal kontrol, DNA izolasyonunu ve PCR inhibisyonunu kontrol etmek amacıyla kitin içine dahil edildi.

#### **3.4.2.3. Pozitif Kontrol**

Pozitif kontrol HBV DNA'sı içermektedir. Reaksiyon verimini test etmek amacıyla PCR'a dahil edildi.

#### **3.4.2.4. DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu üretici firmanın talimatları uyarınca yapıldı. İzolasyon kitlerinin başlangıç hacmi 400 µl ve geri alma hacmi 60 µl, kullanılacak internal kontrol miktarları ise 5 µl idi. Deneye başlamadan önce;

- Hasta serumları 4600 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- Hasta serumları oda ısısında bekletildi.
- 1100 µl "PK Storage Buffer" ı Proteinaz K üzerine eklendi ve vorteklendi.

Proteinaz K sulandırıldıktan sonra +4 C de saklandı. 1000 µl “RNAse free water”ı Carrier RNA üzerinde eklendi ve iyice çözünene kadar vortekslendi. Carrier RNA sulandırıldıktan sonra -20 C<sup>0</sup>de saklandı.

- Her bir örnek tüpüne hazırlanan master mixten 35 µl eklendi.
- Örnek tüplere hasta serumundan 400 µl ilave edildi ve pipet yardımı ile karıştırıldı. Bu işlem tüm örneklerle uygulandı.
- Magnesia 16 izolasyon cihazına, 201 viral kitler yerleştirildi. Steril pipet uçları, elüsyon tüpleri ve master mix ile hazırlanmış hasta serumları izolasyon cihazına yerleştirildi.
- İzolasyon cihazı çalıştırıldı ve 56 dakika sonra işlem sona erdi.
- İzole edilen serumlar elüsyon tüpüne alınarak etiketlendi.

### 3.4.3. PCR’ın Hazırlanması

Kantitasyon amaçlandığı için, kantitasyon standartlarının dördü de, örnekler ve negatif kontrol (PCR uyumlu dH<sub>2</sub>O) ile birlikte her PCR reaksiyonuna kondu. Tüm kit bileşenleri kullanmadan önce çözdürüldü. PCR’ı hazırlamak için aşağıdaki tablodan yararlanıldı. Tablodaki değerler yalnızca bir reaksiyon için verilmistir, master mix için gereken miktarları bulmak için bu değerleri örnek sayısı ile çarpıldı.

PCR Master Mix	5 µl
Örnek DNA’sı (Standart, Negatif / Pozitif Kontrol)	10 µl
Toplam Hacim	25 µl

Tüplere veya striplere 15 µl master mix pipetlendi ve 10 µl DNA (örnek/ standart/pozitif veya negatif kontrol) eklendi ve tüp/striplerin kapaklarını sıkıca kapatıldı. Her tüpteki solüsyonun tüpün dibinde olduğundan emin olundu. Gerekliyse santrifüjlendi.

#### 3.4.4. Real-Time PCR Cihazının Çalıştırılması

Polimeraz zincir reaksiyonu bir DNA bölgesini çoğaltmak için kullanılan bir tekniktir. Reaksiyon tekrar eden ısıtma ve soğutma döngüleri sayesinde gerçekleştirilir.

Kullandığımız Bosphore® HBV Quantification Kit v2, insan serum veya plazma örneklerindeki Hepatit B Virüsü DNA'sının A-H arasındaki tüm HBV genotiplerini saptar ve miktarını belirler. Kitin analitik duyarlılığı 10 IU/ml, lineer aralığı  $1 \times 10^1$ - $1 \times 10^9$  IU/ml'dir. HBV genomu S geninin bir bölümü çoğaltılır ve floresans saptama FAM filtresi kullanılarak gerçekleştirilir.

PCR'in ana bileşenleri; primerler, dNTPler, Taq polimeraz enzimi, tampon çözeltisi ve "template" olarak adlandırılan DNA/ RNA kalıbıdır. Primerler kalıbın spesifik bölgelerine bağlanarak sentezi başlatan kısa, sentetik DNA'lardır. Taq polimeraz DNA kalıbını çoğaltır. Tampon çözeltisi reaksiyon için gereken pH ayarını sağlar, kalıp ise sentez için hedef bölgeyi içerir.

Termal döngüler; DNA Polimerazın aktivasyonu için bir ilk denatürasyon, iki aşamalı amplifikasyon döngüleri ve son bir inkübasyondan oluşur.

İlk denatürasyon	95°C	14:30 min.	} 50 döngü
Denatürasyon	97°C	00:30 min.	
Bağlanma ve sentez (*Floresans Veri Alma)	54°C	01:30 min.	
Sonsuz Inkübasyon	22°C	05:00 min.	

50 döngünün sonunda 22°C'de 5 dakika bekletildi. 3 saat sonra PCR tamamlandı.

### 3.5. İstatistiksel Analiz:

İki bağımsız grup karşılaştırmasında, verilerin parametrik varsayımların sağlanıp sağlanmama durumuna göre, parametrik varsayımlar sağlanıyor ise, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik (bağımsız iki örneklem t) testi, parametrik varsayımlar sağlanmıyor ise, Mann Whitney U testi kullanıldı. Sürekli değişkenler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma biçiminde gösterildi. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde biçiminde gösterildi. Ayrıca sürekli değişkenlerin sunumunda ortalama  $\pm$  (1xstandart sapma) grafiğinden yararlanılırken, kategorik olarak belirtilen değişkenlerin sunumunda çubuk grafiğinden yararlanılmaktadır.  $p$  değerleri 0.05'den küçük olarak hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hesaplamalar hazır istatistik yazılımı ile yapıldı (IBM SPSS Statistics 19, SPSS inc., an IBM Co., Somers, NY).

#### 4.BULGULAR

Çalışmamıza 2013 yılında Tokat'ta iki farklı hemodiyaliz merkezinde hemodiyaliz uygulanan HBsAg negatif olan 160 hasta dahil edildi. Kontrol grubu olarak; Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nefroloji Polikliniği ve Tokat Devlet Hastanesi Nefroloji polikliniğine başvuran, kronik böbrek yetmezliği olan fakat hemodiyaliz tedavisi almayan HBsAg negatif, prediyaliz evresinde 28 hasta olmak üzere toplam 188 hasta çalışmaya dahil edildi.

*Tablo 4: Hemodiyaliz hastalarında cinsiyet ve hemodiyaliz sürelerinin dağılımı*

		n	%
CİNSİYET	Kadın	80	50,0
	Erkek	80	50,0
HEMODİYALİZ SÜRESİ	60 ay ve altı	101	63,1
	60 aydan fazla	59	36,9

Hastaların % 50,0'ı (80/160) kadın, % 50,0'ı (80/160) erkekti. Hemodiyalize 60 ay ve altı girenler % 63,5 (101/160), 60 aydan fazla girenler ise %36,9 (59/160) oranındaydı.



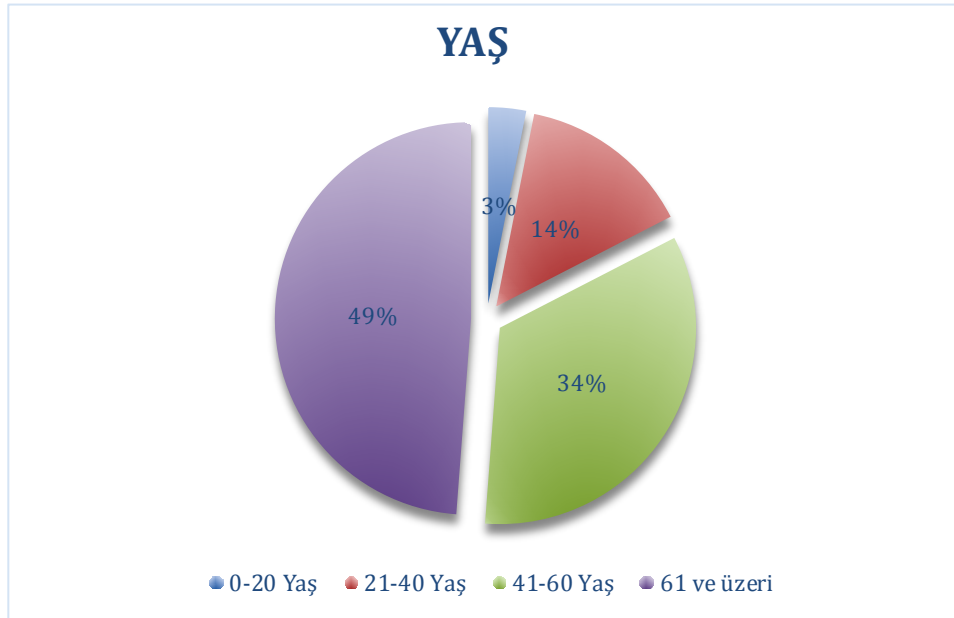
*Şekil 8: Hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı*





Şekil 9: Hastaların Hemodiyaliz Sürelerine Göre Dağılımı

Hemodiyaliz hastalarının yaş ortalaması 9 ile 92 arasında değişmekte olup ortalama yaşları  $57,33 \pm 15,91$  idi. Prediyaliz hastalarının yaş ortalaması  $58,71 \pm 15,08$  idi. Hemodiyaliz hastalarının yaşlarına göre dağılımı Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10: Hastaların Yaşlarına Göre Dağılımı

Hemodiyalize giren 78 hasta (%49) 61 yaş ve üzeri ile en büyük dilimi oluşturuyordu. 0-20 yaş arası hasta sayısı 5 (%3) idi ve en küçük dilimi oluşturuyordu.

Hemodiyaliz hastalarının %11,3'ünde (18/160) HBV DNA pozitifliği bulunarak 18 hastada gizli hepatit B pozitifliği saptandı. Hemodiyaliz hasta grubunda HBV DNA düzeyleri  $0,6 \times 10^1 - 2,973 \times 10^2$  kopya/ml aralığında değişiyordu. Kontrol grubu olan prediyaliz hastalarında ise HBV DNA pozitifliğine rastlanmadı.

*Tablo5: Hemodiyaliz ve prediyaliz hastalarının hepatit belirteçlerinin karşılaştırılması*

		Hemodiyaliz Hastaları		Prediyaliz Hastaları		p
		n	%	n	%	
Anti-HBs	Negatif	18	11,3	14	50,0	0,001
	Pozitif	142	88,7	14	50,0	
Anti-HBc	Negatif	119	74,4	21	75,0	0,999
	Pozitif	41	25,6	7	25,0	
Anti-HCV	Negatif	147	91,9	27	96,4	0,698
	Pozitif	13	8,1	1	3,6	
İzole Anti-HBc	Negatif	155	96,9	27	96,4	0,999
	Pozitif	5	3,1	1	3,6	
HBV-DNA	Negatif	142	88,7	28	100,0	0,080
	Pozitif	18	11,3	0	0,0	

Anti-HBs pozitifliği hemodiyaliz hastalarının 142'sinde (% 88,7), prediyaliz hastalarının ise 14'ünde (%50) saptandı. Hemodiyaliz hastalarında Anti-HBs pozitifliği prediyaliz hastalarından daha fazlaydı ve istatistiksel olarak anlamlı idi ( $P < 0,05$ ).

Anti-HBc pozitifliği hemodiyaliz hastalarının 41'inde (% 25,6), prediyaliz hastalarının 7'sinde (% 25,0) tespit edildi. Hemodiyalize giren 13 hastada (% 8,1) anti-HCV pozitifliğine rastlanırken, prediyaliz grubunda yalnızca 1 hastada (% 3,6) anti-HCV pozitifliğine rastlandı.

İzole anti-HBc pozitifliği hemodiyaliz hastalarının 5'inde (% 3,1), prediyaliz hastalarının 1'inde (% 3,6) tespit edildi.

Hemodiyaliz ve prediyaliz hastaları arasında Anti-HBc, anti-HCV ve İzole anti-HBc pozitiflikleri arasında anlamlı bir fark yoktu ( $P>0,05$ ).

*Tablo 6: Hemodiyaliz ve prediyaliz hastalarının AST, ALT ve CRP belirteçlerinin karşılaştırılması*

	Hemodiyaliz Hastaları (n=160)		Prediyaliz Hastaları (n=28)		Normal Değerler	p
	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma		
AST (U/L)	13,79	10,53	14,35	6,93	10-38 (U/L)	0,786
ALT (U/L)	13,37	11,08	14,63	9,43	7-35 (U/L)	0,571
CRP (mg/l)	15,84	26,29	6,61	20,75	0-5 (mg/l)	0,079

AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, CRP: C-reaktif protein

Hemodiyaliz hastalarında ortalama AST düzeyi  $13,79 \pm 10,53$  (U/L) iken, prediyaliz hastalarında  $14,35 \pm 6,93$  (U/L) idi. ALT hemodiyaliz hastalarında  $13,37 \pm 11,08$  (U/L) prediyaliz hastalarında  $14,63 \pm 9,43$  (U/L) düzeyindeydi. CRP seviyelerinde ise hemodiyaliz hastalarında  $15,84 \pm 26,29$ , prediyaliz hastalarında  $6,61 \pm 20,75$  idi.

Bu iki grup arasında AST ve ALT seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. CRP düzeyi hemodiyaliz hastalarında daha yüksek bulunmasına rağmen iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $P>0,05$ ).

Tablo 7: Gizli hepatit B hastalarının genel özellikleri

HASTA	CİNSİYET	YAŞ	DİYALİZ SÜRESİ	AST	ALT	Anti- HBs	Anti- HBc	Anti- HCV	HBV-DNA (IU/ml)	CRP
1.	K	50	144 ay	24	1	4,6	0,15	0,61	2,257X10 <sup>2</sup>	11,50
2.	K	67	132 ay	11	25	86,3	0,22	>11	1,107x10 <sup>2</sup>	8,19
3.	K	77	12 ay	16	13	64,9	0,13	0,21	6,351	3,19
4.	E	75	192 ay	11	9	51,2	5,2	0,18	1,674X10 <sup>1</sup>	200,0
5.	E	67	108 ay	6	19	62,2	0,16	0,15	1,795X10 <sup>1</sup>	20,30
6.	E	40	156 ay	15	23	662,3	0,15	>11	2,369X10 <sup>1</sup>	6,17
7.	K	30	72 ay	12	10	139,9	0,19	0,15	1,253X10 <sup>1</sup>	3,19
8.	E	62	156 ay	4	13	>802	2,75	0,2	6,655X10 <sup>1</sup>	3,19
9.	E	65	60 ay	12	7	82,1	0,17	0,41	2,726X10 <sup>1</sup>	5,49
10.	K	74	24 ay	9,9	8,2	781	0,17	0,07	2,83X10 <sup>1</sup>	8,25
11.	E	52	48 ay	14	12	125,3	62,5	0,06	3,027X10 <sup>1</sup>	80,80
12.	K	29	108 ay	9,8	8,4	82,7	0,23	0,05	2,973X10 <sup>2</sup>	14,9
13.	E	59	72 ay	27,4	20,5	58,5	9,16	30,9	3,864X10 <sup>1</sup>	3,19
14.	E	60	36 ay	9,8	11,4	>802	0,26	0,03	2,80X10 <sup>1</sup>	21,7
15.	K	69	36 ay	7	1	460,7	0,15	0,07	4,04X10 <sup>1</sup>	19,1
16.	E	70	12 ay	9,2	9,8	12,5	0,16	0,11	1,336X10 <sup>1</sup>	10,4
17.	K	80	18 ay	10,7	9,9	675	0,14	0,02	2,583X10 <sup>1</sup>	5,98
18.	K	57	36 ay	15,6	12,9	99	0,21	0,06	2,318X10 <sup>1</sup>	17,1

Tablo 8: Gizli HBV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının karşılaştırılması

	HBV-DNA				p
	Pozitif (n=18)		Negatif (n=142)		
	Ortalama ± Standart Sapma		Ortalama ± Standart Sapma		
YAŞ	60,17	15,05	56,97	16,14	0,424
AST	12,47	5,79	13,95	10,99	0,574
ALT	11,89	6,56	13,55	11,53	0,551
CRP	24,59	47,23	14,73	22,34	0,488
DIYALİZ SÜRESİ (Ay)	79,00	57,41	59,02	55,15	0,094

DNA pozitif olan 18 hasta ile HBV DNA negatif 142 hasta karşılaştırıldı. HBV DNA pozitif hastaların yaş ortalaması  $60,17 \pm 15,05$  yıl, HBV DNA negatif hastaların yaş ortalaması ise  $56,97 \pm 16,14$  yıl idi. AST seviyeleri HBV DNA pozitiflerde  $12,47 \pm 5,79$  (U/L), HBV DNA negatiflerde  $13,95 \pm 10,99$  (U/L) değerindeydi. ALT HBV DNA pozitif ve negatif hastalarda sırasıyla  $11,89 \pm 6,56$  (U/L),  $13,55 \pm 11,53$  (U/L) düzeylerindekiydi. CRP HBV DNA pozitif hastalarda  $24,59 \pm 47,23$  (mg/l), HBV DNA negatif hastalarda  $14,73 \pm 22,34$  (mg/l) seviyelerindekiydi. Diyaliz süreleri karşılaştırıldığında ise HBV DNA pozitif hastalarda  $79,00 \pm 57,41$  ay ve HBV DNA negatif hastalarda  $59,02 \pm 55,15$  ay süreleri saptandı. Diyaliz sürelerinde gizli hepatit B saptanan hastalarda belirgin bir yükseklik olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 9: Gizli HBV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının yaş gruplarına göre karşılaştırılması

			HBV-DNA		p
			Negatif	Pozitif	
YAŞ GRUPLARI	0-20	n	5	0	0,773
		HBV-DNA %	3,1%	0,0%	
	21-40	n	20	3	
		HBV-DNA %	14,1%	16,7%	
	41-60	n	49	5	
		HBV-DNA %	34,5%	27,8%	
	61 ve üzeri	n	68	10	
		HBV-DNA %	47,9%	55,6%	

Gizli hepatit B saptanan 18 hastanın 10'u (%55,6) 61 yaş ve üzeri, 5 hasta (%27,8) 41-60 yaş aralığında, 3 hasta (% 16,7) 21-40 yaş aralığındaydı. 0-20 yaş aralığında gizli hepatit B enfeksiyonuna rastlanmadı. Gizli hepatit B pozitifliği ile yaş grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 10: Gizli HBV pozitif ve negatif hemodiyaliz hastalarının hepatit belirteçlerinin karşılaştırılması

		HBV-DNA				p
		Negatif		Pozitif		
		n	%	n	%	
Anti-HBs	Negatif	17	12,0	1	5,6	0,696
	Pozitif	125	88,0	17	94,4	
Anti-HBc	Negatif	105	73,9	14	77,8	0,999
	Pozitif	37	26,1	4	22,2	
Anti-HCV	Negatif	132	93,0	15	83,3	0,166
	Pozitif	10	7,0	3	16,7	
İzole Anti-HBc	Negatif	137	96,5	18	100,0	0,999
	Pozitif	5	3,5	0	0,0	

Anti-HBs pozitifliği HBV DNA pozitif hastalarda %94,4 (17/18), HBV DNA negatif hastalarda % 88,0 (125/142), Anti-HBc pozitifliği HBV DNA pozitif hastalarda % 22,2 (4/18), HBV DNA negatif hastalarda % 26,1 (37/142), Anti-HCV pozitifliği HBV DNA pozitif hastalarda % 16,7 (3/18), HBV DNA negatif hastalarda %7,0 (10/142) idi. İzole Anti-HBc pozitifliğine HBV DNA pozitif hastalarda rastlanmadı, HBV DNA negatif hastalarda ise %3,5 (5/142) oranındaydı. Gizli hepatit B enfeksiyonu ile hepatit belirteçleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $P<0,05$ ).

*Tablo 11: Anti-HCV pozitif ve negatif hastaların yaş, AST, ALT, CRP ve diyaliz sürelerinin karşılaştırılması*

	Anti-HCV				p
	Negatif (n=147)		Pozitif (n=13)		
	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma	
Yaş	57,31	16,18	57,54	12,95	0,961
AST	12,86	8,29	24,27	22,45	0,001
ALT	12,33	8,43	25,09	24,49	0,001
CRP	15,78	25,57	16,51	34,64	0,924
Diyaliz Süresi (Ay)	56,35	50,91	116,69	75,80	0,006

Anti-HCV pozitif ve negatif hastaların yaş ortalamaları sırasıyla  $57,54\pm 12,95$  yıl,  $57,31\pm 16,18$  yıl olarak saptandı. Anti-HCV pozitif hastaların AST değeri  $24,27\pm 22,45$  (U/L), Anti-HCV negatif hastaların ise  $12,86\pm 8,29$  (U/L) değerleriydi. Pozitif ve negatif hastaların ALT değerleri sırasıyla  $25,09\pm 24,49$  (U/L) ve  $12,33\pm 8,43$  (U/L) olarak tespit edildi. CRP seviyeleri ise pozitif grupta  $16,51\pm 34,64$  (mg/l) negatif grupta  $15,78\pm 25,57$  (mg/l) İdi. Anti-HCV pozitif hastalarda diyaliz süreleri  $116,69\pm 75,80$  ay, negatif hastalarda ise  $56,35\pm 50,91$  ay idi. Anti-HCV pozitifliği ile yaş ve CRP değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamasına rağmen, anti-HCV pozitifliği ile AST, ALT ve diyaliz süreleri arasında anlamlı bir ilişki vardı. Anti-HCV pozitif hastalarda AST, ALT ve diyaliz sürelerinin belirgin bir yüksekliği vardı ve istatistiksel olarak anlamlıydı ( $P<0,05$ ).

Tablo 12: İzole Anti-HBc pozitif ve negatif hastaların yaş, AST, ALT, CRP ve diyaliz sürelerinin karşılaştırılması

	İzole Anti-HBc				p
	Negatif (n=155)		Pozitif (n=5)		
	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama	Standart Sapma	
Yaş	57,36	15,96	56,40	15,81	0,895
AST	13,73	10,63	15,54	7,45	0,707
ALT	13,33	11,18	14,58	8,20	0,804
CRP	16,02	26,65	10,35	9,30	0,637
Diyaliz Süresi (Ay)	61,44	55,28	55,25	76,29	0,827

İzole anti-HBc pozitif ve negatif hastaların yaş, AST, ALT, CRP ve diyaliz süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $P>0,05$ ).



## 5.TARTIŞMA

HBV insan karaciğer hastalığının en sık nedenidir (89, 90). Hemodiyaliz hastalarında; bozulmuş konak immün yanıtı ve çoklu transfüzyon gereksinimlerinden dolayı parenteral olarak viral ajanların bulaşması ile potansiyel olarak enfeksiyon riski artmıştır. Viral hepatitler hemodiyaliz hastalarında önemli bir problem olarak kabul edilir. Çünkü bu popülasyonda görülen ölümlerin %1,9'u viral hepatitlerin sonucudur (91). Hepatit B virüsü hemodiyaliz hastalarında parenteral yol ile bulaşan enfeksiyonların en önemli nedenlerinden birisidir. Gizli HBV enfeksiyonu HBsAg saptanmadan HBV enfeksiyonunun varlığı ile karakterizedir ve hemodiyaliz uygulanan hastalarda HBV'nin bulaşma riski vardır (91).

Zamanımızdan yaklaşık 35 yıl öncesinde HBV enfeksiyonu diyaliz ünitelerinde çok yaygındı ve çok ciddi bir tehdit olarak algılanıyordu. Bahsedilen bazı diyaliz ünitelerinde HBsAg prevalansı o zamanlarda % 50'nin üzerine çıkmıştı. Amerika Birleşik Devletleri "Hastalıkları Kontrol Merkezi (CDC)" nin uygulamaları olan; HBsAg pozitif hastaların HBsAg negatif hastalardan farklı diyaliz cihazlarına alınması, diyaliz ekipmanlarının ve personelin özel olması ve hijyen kurallarına dikkat edilmesi sonucunda hemodiyaliz ünitelerinde HBsAg prevalansında hızlı bir düşüş yaşanmıştır (92).

Hemodiyaliz uygulanan hastalar potansiyel olarak artan bir HBV ve gizli hepatit B enfeksiyon riskine sahiptirler. Konağın bozulmuş immün yanıtı, çoklu transfüzyon gereksinimleri, paylaşılan diyaliz ekipmanları, invaziv prosedürler ve HBV aşısının düşük cevabı hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B bulaşının ana risk faktörlerindedir (51). Hepatit B aşısı yapılan hemodiyaliz hastalarının yalnızca % 50-60'ında koruyucu antikor cevabı gelişmektedir (93).

Akut hepatit B geçiren hemodiyaliz hastalarının kronik taşıyıcı olma ihtimalleri oldukça fazladır. Kronikleşme ihtimali diyaliz hastası olmayanlar için % 10 iken, bu oran diyaliz hastalarında % 80 seviyesindedir. Ayrıca, HBV taşıyıcısı olan diyaliz hastalarında kronik karaciğer hastalığı gelişme riski de oldukça yüksektir (94).

Sonuç olarak bu çalışmanın amacı; hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B prevalansını saptamak, kapsamlı bilgi sağlamak, HBV virüsünün bulaş risklerini belirlemektir.

Hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B enfeksiyonu prevalans değerlerinde oldukça farklı raporlar vardır. Böbrek diyalizi hastalarında GHB enfeksiyon prevalansı yayınlanan raporlarda % 0-58 arasında değişmektedir (95-98).

Bizim çalışmamızda 160 hemodiyaliz hastasının 18'inde (% 11,3) gizli hepatit B enfeksiyonu tespit edildi. Kontrol grubu olan 28 prediyaliz hastasında ise gizli hepatit B enfeksiyonuna rastlanmadı (*Tablo 5*).

Gizli hepatit B enfeksiyonuna sahip hastaların serumlarında HBV-DNA düzeyi genel olarak  $10^4$  kopya/ml'den düşüktür ( $10^{2-3}$  kopya/ml serumda, 0,01-0,1 kopya/ karaciğer hücresinde) (68, 47).

Çalışmamızda da gizli hepatit B olgularının serum HBV DNA düzeyleri oldukça düşük titrelerde olmak üzere  $0,6 \times 10^1$ – $2,973 \times 10^2$  kopya/ml aralığında değişiyordu (*Tablo 7*).

Gizli hepatit B enfeksiyonu prevalansı toplumun %70-90'ının HBV'ye maruz kaldığı endemik bölgelerdeki kan donörleri arasında %7-19 arasında iken, batılı ülkelerde (HBV'ye maruziyet yaklaşık %5) gizli hepatit B prevalansı %0-9 arasındadır (99).

*Cabrerizo ve ark.* (96)'nın İspanya'da yaptıkları çalışmada hemodiyaliz hastalarında %57,6 değeriyle en yüksek GHB oranını buldular.

*Motta ve ark.* (100)'nın Brezilya'da yapılan çalışmalarında 100 HBsAg negatif hemodiyaliz hastasının serum örneklerinde HBV DNA'nın varlığını araştırdı. HBV DNA varlığı örneklerin %15'inde saptandı. Bu çalışmada HCV durumu, cinsiyet, yaş, diyaliz süresi, alanin aminotransferaz seviyesi, HBV serolojik belirteçleri gizli hepatit B olmayan hastalarla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı.

GHB prevalansları; *Minuk ve ark.* (101)'nin çalışmalarında Kanada'da %3,8 (9/241), *Siagris ve ark.* (102)'nin çalışmalarında Yunanistan'da %20,4 (10/49), *Di Stefano ve ark.* (103)'nin çalışmalarında İtalya'da %26,6 (34/128), *Mina ve ark.* (104)'nin çalışmalarında Yunanistan'da %0,9 (3/366), *Aghakhani ve ark.* (105)'nin çalışmalarında İran'da %3,11 ( 9/289), *İsmail ve ark.* (106)'nin çalışmalarında

Mısır'da %3,8 ( 2/116), *Mukarem ve ark.* (107)'nin çalışmalarında yine Mısır'da %4,1 ( 6/145) ve *Albuquerque ve ark.* (108)'nin çalışmalarında Brezilya'da %1,5 ( 3/752) olarak bildirdiler.

*Fabrizzi ve ark.* (95)'nin çalışmalarında İtalya'da 585 hastada, *Tereul ve ark.* (109)'nin çalışmalarında İspanya'da 61 hastada, *Joukar ve ark.* (110)'nin çalışmalarında İran'da 514 hastada gizli hepatit B enfeksiyonuna rastlamadılar (GHB oranı % 0 ).

Türkiyede de hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B enfeksiyonu ile ilgili çalışmalar yapıldı ve bildirilen GHB prevelans değerleri oldukça farklılık gösteriyordu. Türkiye'de *Altındış ve ark.* (88)'nin hemodiyaliz hastalarında yaptığı çalışmada gizli hepatit B prevelansı % 12,4 (19/153) olarak saptandı.

*Sav ve ark.* (111)'nin 2010 yılında Türkiye'de yaptığı çalışmada GHB prevelansı %16,9 (12/71) idi.

Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda oranlar daha düşüktü. GHB prevelansı *Yakaryılmaz ve ark.* (112)'nin çalışmalarında %2,7 (5/188), *Ersoy ve ark.* (113)'nin çalışmalarında %1,25 (1/80) ve *Goral ve ark.* (114)'nin çalışmalarında ise %0 (0/50) değerlerini bildirdiler.

*Doğukan ve ark.* (115)'nin Türkiye'de HBsAg negatif olan toplam 174 hasta ile yaptıkları çalışmada hemodiyaliz hastalarının %2,6'sında, periton diyalizi hastalarının %1,8'inde HBV-DNA varlığını saptadılar. Buna karşılık, prediyalitik hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonu saptanmadı.

Bizim çalışmamızda ise GHB prevelansımız (%11,3) Türkiye'de ve dünyada yapılan diğer çalışma sonuçlarının geniş aralığı içerisinde yer almaktaydı (*Tablo 5*).

Hemodiyaliz hastaları arasındaki gizli hepatit B enfeksiyon prevelansındaki bu farklılıkların nedeni; endemisine, HBV DNA testleri için örnek seçim kriterleri, klinik örnekler ve HBV DNA'nın tespiti için kullanılan metodların farklı sensitivite ve spesifiteye sahip olması ve çalışılan popülasyondaki farklılıklardan dolayı bu tutarsızlıklar ve çelişik sonuçlar olabilir (91).

PCR metotlarının sensitivite ve spesifitelerinin geliştirilmesi ile HBV enfeksiyonunun tek belirteci olarak HBV DNA taşıyan bireylerin HBV DNA için 10 IU/ml limitlerinden daha azını tespit edilebilmesine yol açmıştır (116).

İzole anti-HBc durumu, HBsAg ve anti-HBs yokluğunda anti-HBc varlığı olarak tanımlanır (117, 118, 119). Bu serolojik paternlerin önemi belirsizdir (120).

Fakat GHB enfeksiyonu HBV'nin tek serolojik belirteci olarak anti-HBc pozitif olan hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Ancak anti-HBs ve Anti-HBc negatif bireylerde tespit edilebilir (117, 118).

İzole anti-HBc ve GHB enfeksiyonunun prevalansı HBV enfeksiyonunun endemik olduğu bölgelerde, düşük endemik bölgelerden daha yüksektir (121).

HCV ve HIV ile enfekte hastalar, İV ilaç kullanıcıları gibi riskli seçilmiş gruplarda izole anti-HBc prevalansı değişken olmasına rağmen batılı ülkeler ve düşük endemik bölgelerde anti-HBc prevalansı %1-4 arasındadır (91). Öte yandan Güney-Doğu Asya, Kuzey Afrika ve Yunanistan gibi endemik bölgelerde izole anti-HBc prevalansı daha yüksek görülür ve seçilmiş popülasyona ve coğrafik alana bağlı olarak %0-22,8 arasında, izole anti-HBc pozitif hastalarda ise HBV DNA oranı yaklaşık %10 olarak bildirilmiştir (122).

Çalışmamızda izole anti-HBc pozitifliği hemodiyaliz uygulanan hastaların % 3,1'inde (5/160), prediyaliz hastalarının % 3,6'sında (1/28) tespit edildi (*Tablo 5*).

İzole anti-HBc pozitifliği olan hastalarda gizli hepatit B varlığına rastlanmadı (*Tablo 10*). İzole anti-HBc pozitif ve negatif hastaların yaşı, AST, ALT, CRP ve diyaliz süreleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $P > 0,05$ ) (*Tablo 12*).

Başka çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edildi. Bunlardan *Fabrizi ve ark.* (81)'nin çalışmalarında İtalyan kronik diyaliz hastalarında kohort geniş bir araştırma yaptılar ve hemodiyaliz hastalarında izole anti-HBc oranını % 20,8 buldular. Fakat çalışma gruplarında gizli hepatit B yoktu (95).

Ayrıca *Jardim ve ark.* (78) anti-HBc pozitif 34 diyaliz hastasında HBV DNA'yı saptayamadılar. Bahsedilen çalışmalarla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da izole anti-HBc'li hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonuna rastlanmadı (92).

Bunların aksine İran'da *Aghakhani ve ark.* (79)'nin yaptığı bir çalışmada izole anti-HBc'li hastalarda HBV DNA %50 oranında saptandı. Bu gözlem gizli hepatit B enfeksiyonunun izole anti-HBc'li hemodiyaliz hastalarında yaygın olabileceğini gösterdi ve izole anti-HBc'nin saptanması hemodiyaliz hastalarında tanınmayan gizli hepatit B enfeksiyonunu yansıtabileceğini düşündürdü. Bu enfeksiyonların büyük çoğunluğu düşük viral yük ile ilişkilidir (93).

*Carpenter ve ark.* (123)'nin çalışmasında ise anti-HBc prevelansının anti-HCV pozitif hastalarda yüksek olduğunu göstermiştir.

*Yakaryılmaz ve ark.* (112) anti-HCV pozitif hastalarda anti-HBc prevelansını % 7,9 bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ise anti-HCV pozitif hastalar arasında izole anti-HBc pozitifliği %9,09 (1/11) olarak saptandı. Buna karşılık *Beşışık ve ark.* (12) HCV'li hastalarda anti-HBc prevelansını % 0 olarak saptamışlardır (*Tablo 7*).

Yine çalışma sonuçlarımızda anti-HCV pozitifliği ile yaş ve CRP değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanamamasına rağmen, anti-HCV pozitifliği ile AST, ALT ve diyaliz süreleri arasında anlamlı bir ilişki vardı. Anti-HCV pozitif hastalarda AST, ALT ve diyaliz sürelerinin belirgin bir yüksekliği vardı. ( $P<0,05$ ) (*Tablo 11*).

Diyaliz sürelerinde gizli hepatit B pozitif hastalarda negatif hastalara kıyasla belirgin bir yükseklik olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunamadı.

Hemodiyaliz uygulanan hastalarda HBV enfeksiyonunun yanında, HCV enfeksiyonu da büyük önem taşımaktadır. Gizli hepatit B enfeksiyonlarının kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda daha sık rastlandığının yayınlanmasına rağmen, bu ko-enfeksiyonların klinik olarak önemi net değildir (124).

HCV enfeksiyonu HBV'nin replikasyonunu ve aynı zamanda in vitro ve in vivo olarak HBV'nin yüzey proteinlerinin ekspresyonunu baskılar (125, 126). HCV ile enfekte hemodiyaliz hastalarında GHB %0-36 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (127). Kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda GHB oranları; *Kao ve ark.* (128) %15 (31/210), *Silva ve ark.* (129) %14 (15/106), *Khattab ve ark.* (124) %7,5 (4/53) oranlarında tespit etmişlerdir. *Altındiş ve ark.* (88)'nin yaptığı çalışmada kronik HCV'li hemodiyaliz hastalarında GHB oranı % 27,4 (11/40) olarak bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda HCV negatif hastalarda GHB oranı %10,2 (15/147) iken, HCV pozitif hastalarda GHB oranı %23,7 (3/13) olarak saptanmıştır. Sonuçlarımız kronik HCV'li hastalarda GHB oranının yüksek olabileceğini desteklemektedir. Bunların aksine *Göral ve ark.* (114)'nin çalışmasında anti-HCV pozitif 50 kronik hemodiyaliz hastasında gizli hepatit B enfeksiyonu tespit edememişlerdir.

Serum aminotransferazları olan AST ve ALT genel popülasyon ve hemodiyaliz hastalarında karaciğer hastalıklarının taranması amacıyla kullanılır (130, 131). Viral hepatitlerin saptanmasında AST ve ALT cutt off (alt sınır) değerleri bu popülasyonda düşük düzeyde ayarlanmalıdır (132).

Ön çalışmalarda GHB ve aminotransferaz seviyeleri arasında bir ilişki öne sürülmüştür (133). *Sav ve ark.* (111)'nin araştırmasında, sürekli ayaktan periton diyalizi (SAPD) hastalarında GHB prevalansı %9,8 iken hemodiyaliz hastalarında GHB prevalansı %16,9 olarak bildirilmiştir. AST ve ALT seviyeleri HBV DNA pozitif hastaların tamamında normal olarak bulunmuştur. Onlar GHB prevalansını hemodiyaliz hastalarında olduğu gibi SAPD hastalarında da yaygın olabileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda Gizli HBV enfeksiyonu pozitif olan hastalarla negatif hastaların karaciğer enzim düzeyleri karşılaştırıldı. Her iki grupta da ortalama AST ve ALT değerleri normal sınırlar içindeydi ve gizli hepatit B pozitif ve negatif hastalarda AST ve ALT düzeyleri arasında anlamlı fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Diyalize bağımlı olan hastalarda daha belirgin olmakla birlikte kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda çeşitli sebeplere bağlı olarak gelişen mikroiinflamasyonun belirteci olan CRP değerleri ise gizli hepatit B pozitif ve negatif hastalar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Diyaliz sürelerinde gizli hepatit B saptanan hastalarda belirgin bir yükseklik olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 8).

*Yakaryılmaz ve ark.* (112)'nin çalışmalarında AST ve ALT seviyelerinin HBV viremi olan ve olmayan hastalarda benzer olduğunu gösterdiler.

*Fabrizi ve ark.* (134)'nin çalışmalarında serumda AST ve ALT aktiviteleri ile HBsAg / HBV DNA'nın saptanabilirliği arasında anlamlı bir ilişki gösterdiler. AST ve ALT düzeyinin diyaliz hastaları sağlıklı bireylere göre daha düşük olduğunu bildirdiler. *Aghakhani ve ark.* (91)'nin çalışmalarında gizli hepatit B enfeksiyonu ile biyokimyasal karaciğer testleri arasında hiçbir ilişki bulunamadı.

Bu çalışmalar sonucunda karaciğer fonksiyon testlerinin GHB hastalarının karaciğer hasarının saptanmasında yararlı olabileceğini düşünmemekteyiz.

Anti-HBs varlığında değişen viral yüklerde HBV DNA pozitifliği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda anti-HBs titresi de değişkenlik göstermekle birlikte

pek çok çalışmada >100 IU/ml hatta 1000 IU/ml ve üstünde anti-HBs düzeyi varlığında bile HBV DNA pozitifliği olduğu gösterilmiştir (135).

Bizim çalışmamızda GHB tanısı alan 18 hastadan 17'sinde anti-HBs pozitifliği vardı ve anti-HBs titreleri oldukça yüksekti (*Tablo: 10*).

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarında gizli HBV enfeksiyonu oranının (%11,3) azımsanmayacak düzeyde olduğu saptanmış ve hemodiyaliz uygulanan yüksek riskli hasta gruplarında bulaş riskinin olmaması için hemodiyaliz hastalarının serolojik belirteçleri negatif olsa bile moleküler yöntemler ile taranmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Diyaliz ünitelerinde GHB'li hastaların saptanması gereklidir. Bu alanlarda HBV bulaşı açısından potansiyel kaynak oluşturabilirler. Diyaliz uygulanan tüm hastaların HBV DNA taramaları yapılmalıdır. Fakat bu moleküler tarama testinin yüksek riskli popülasyonlar ile sınırlı olup olmadığı tartışmalıdır.

Ayrıca hemodiyaliz hastalarında GHB enfeksiyonunun önemi dikkate alınmalıdır ve duyarlı hastaların aşılınması, GHB tanısı konulmuş hastaların diyalizörlerinin izole edilmesi, HBV tanısı alan hastaların spesifik bir servise alınması önerilebilir.

Bu hastaların ileri takiplerinin yapılarak; viral yüklerinde artış olup olmadığı, karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme düzeyi, karaciğer biyopsisinde histolojik değişiklikler araştırılarak gizli hepatit B enfeksiyonunun tanımlanmasına katkıda bulunacak ve tedaviye yaklaşımın belirlenmesinde yol gösterici olacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH. Manual of Clinical Microbiology. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT ve ark. (çeviren). 9. Baskı, İstanbul: Atlas. 2007; 8: 1721-1792.
2. Lin KW, JT Kirchner. Hepatitis B. Am. Fam. Physician 2004; 69: 75-82
3. Lok AS, BJ McMahon. Chronic hepatitis: update of recommendations. Hepatology. 2004; 39: 857-861.
4. Fattovich G, T Stroffolini, I Zagni, F Donato. Hepacelluler carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. Gastroenterology 2004; 127: 35-50.
5. Pawlotsky JM. Hepatitis B virus (HBV) DNA assays (methods and practical use) and viral kinetics. J Hepatol 2003; 39: 31-35.
6. Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, and Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection. Journal of Hepatology, 2007; 46: 160-170
7. Al-Moslih MI, l Sayed AE, Youssef H, and El Majeed AA. Occult Hepatitis B Virus Infection Among Chronic Liver Disease Patients in the United Arab Emirates. International Journal of Infectious Diseases. 2008; 12: 422-430.
8. Ergünay K. Gizli (Okült ) Hepatit B Enfeksiyonu. Mikrobiyol Bült 2005; 39: 241-249.
9. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. Lancet Infect Dis 2002; 2: 479-486.
10. Lo YM, Lo ES, Mehal WZ. Geographical variation in prevalence of hepatitis B virus DNA in HBsAg negative patients. J Clin Pathol 1993; 46: 304-08.
11. Minuk GY, Sun DF, Uhanova J and et al. Occult hepatitis B virus infection in North American community based population. J. Hepatol 2005; 42: 480-85.
12. Beşışık F, Karaca C, Akyüz F ve ark. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. J Hepatol 2003; 38: 506-510.
13. Özacar T. Hepatit B Virüsü. İn: Topçu W, Söyletir G, Doğanay M (Ed.). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi.3.baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri 2008: 147; 1882-1901.
14. Yenen OŞ, Topçu W, Söyletir G ve ark. (Ed.). Hepatit B.İnfeksiyon Hastalıkları, 1.Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1996: 641-700.



15. Zuckerman AJ. Woodchuck, squirrel and duck hepatitis viruses. *Nature* 1981; 289:748-749.
16. Horvat RT, Tegtmeyer GE: Hepatit B ve D Virüsleri. *Klinik Mikrobiyoloji İn: Murray RP, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, 2009: 1641-1659.*
17. Bozdayı AM. Hepatit B virusu: virolojik özellikler, genotipler, klinik önemi. Çakaloğlu Y, Ökten A (ed.). *Hepatit B: Ulusal Uzlaşma Toplantı Metinleri. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2004: 11-27.*
18. Bilgiç A, Özacar T. Hepatit B virus. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (ed.). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Cilt 2. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 1350-1370.*
19. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M (ed.). *Mikrobiyoloji. Hepatit virüsleri. 4.Baskı, İzmir, Asya Tıp Kitabevi, 2005: 402-419.*
20. Ustaçelebi Ş, Ergünay K. Hepatit B virusunun moleküler virolojisi. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (ed.). *Viral Hepatit 2007, 1.Baskı, İstanbul: Oban Matbaası, 2007: 96-107.*
21. Lee WM Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337: 1733–1745
22. Kesbiç H. Kan Donörlerinde Hepatit B Virüs Core Antikorlarının Saptanması, *Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 2007.*
23. Kılıçturgay K, Mıstık R. Türkiye’de Viral Hepatitler (Genel Durum). Kılıçturgay K.(Ed). *Viral Hepatit 94, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, İstanbul; 1994: 1-14.*
24. Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World J Gastroenterol* 2007; 14-21.
25. Glebe D, Urban S. Viral and cellüler determinants involved in hepadnaviral entry. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 22-38.
26. Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64(1): 51-68.
27. Akan E. Viral Hepatitler. Genel ve Özel Viroloji. 3. Baskı, İzmir: Saray Kitapevleri, 1994: 502- 549.
28. Lau JYN, Wright TL. Molecular Virology and Pathogenesis of Hepatitis B. *Lancet*; 1993; 342: 1335-1340.

29. Kıyan M. Hepatit B Virüsü, Viral Hepatit 2003. Tekeli E, Balık İ (Ed.). Karakter Color A.Ş. 2003: 86-120.
30. Badur S. Hepatit B virusu (HBV): Viroloji ve Serolojik tanı, Viral Hepatit 92, Kılıçturgay K (Ed.). İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 1992: 45-61.
31. Kann M, Lu X, Gerlich WH. Recent studies on replication of hepatitis B virus. J Hepatol 1995; 22: 9.
32. Santantonio T, Jung MC, Schneider R, et al. Hepatitis B virus genomes that can not synthesize pre-S2 proteins occur frequently and as dominant virus populations in chronic carriers in Italy. Virology 1992; 188: 948-952
33. Badur S: Hepatit B virusu (HBV): moleküler viroloji ve serolojik tanı. Kılıçturgay K (Ed.). Viral Hepatit '94, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 1994: 65-90.
34. Ganem D. Hepadnaviridae and their replication. Fields BN, Knipe DM, Howley PM (Ed.). Fields Virology. 3.Baskı Lippincoy, Raven Press, 1996; 2703-2737
35. Robinson WS: Hepadnaviridae and their replication. Fields BN, Knipe DM (Ed.). Fundamenial Virology. 2 nd Ed. New York, Raven Press, 1991; 989-1021.
36. Badur S. Viral hepatitler. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (Ed.). Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 2004;175-202.
37. Ou JH, Yeh CT, Yen TS. Transport of hepatitis B virus precore proteins into the nucleus after cleavage of its signal peptide. J Virol 1989; 63: 5238-5243
38. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, et al. Nomenclature for antiviral resistant human hepatitis B virus mutations in the polimerase region. Hepatology 2001; 33: 751-757.
39. Andrisani OM, Barnabas S. The transcriptional function of the hepatitis B virüs X protein and its role in hepatocarcinogenesis. Int J Oncol 1999; 15(2): 373-9.
40. Feitelson MA, Duan L-X, Guo J, Blumberg BS. X region deletion mutants associated with surface antigen-positive hepatitis B virus infection. Gastroenterolog 1995; 108: 1810-1809.
41. Hsia CC, Yuwen H, Tahor E. Hot spot mutations in hepatitis B virus X gene in Hepatocellular carcinoma. Lancet 1996; 348: 625-626.

42. Kidd-Ljunggren K, Myhre E, Blackberg J. Clinical and serological variation between patients infected with different hepatitis B virus genotypes. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42: 5837-5841.
43. Alestig E, Hannoun C, Horal P, et al. Hepatitis B virus genotypes in Mongols and Australian Aborigines. *Arch. Virol.* 2001; 146: 2321-2329.
44. Kramvis A, Kew M ve Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005; 23: 2409-2423.
45. Norder H, Courouce AM, Coursaget R, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HbsAg subtypes. *Intervirology* 2004; 47: 289-309
46. Norder H, Courouce AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198: 489-503.
47. Weinberger KM, Bauer T, Bohm S, Jilg W. High genetic variability of the group specific a determinant of hepatitis B virus surface antigen and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J General Virol* 2000; 81: 1165-1174.
48. Gldaş N, Abacıoğlu H. Hepatit B virus genotiplerinin S geninin nükleotid dizi analizi ve RFLP yntemleriyle belirlenmesi. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 2002.
49. Magnius LO, Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 1995; 38: 24-34.
50. Eyign CP. Hepatit B Virüsü Mutasyonlarının Klinik nemi ve Tedaviye Etkiler, *Viral Hepatit 2007*, Tabak F, Balık İ, Tekeli (Ed.). Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2007; 131-144.
51. Koziel MR, Thio CL. Hepatitis B virus and Hepatitis D virus, *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7. Edition, Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Ed.). USA, Churchill-Livingstone, 2010; 2059-2087.
52. Selma T. Türkiye’de Viral Hepatit B Epidemiyolojisi Yayınlarının Metaanalizi. ‘Viral Hepatit 2013’, Fehmi T, Selma T (Ed.). Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. 1. Baskı, İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2013; 25-80.

53. Tekeli E. Hepatit B Virüs Enfeksiyonundan Korunma, Viral Hepatit 2007, Tabak F, Balık İ, Tekeli E (Ed.). Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2007; 176-180.
54. Yamazhan T, Ulusoy S. Hepatit B'den Korunma, Kronik Hepatitlerin Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Köksal İ, Leblebicioğlu H (Ed.). Bilimsel Tıp Yayınevi, 2007; 111-120.
55. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Hepatit B hakkında genelge, 4-6-1998/6856.
56. Eyigün CP, Avcı İY. Hepatit B ve D Virüsleri, Klinik Mikrobiyoloji Cilt 1-2, Başustaoğlu A (Çeviren). 9. Baskı, (Horvat RT, Teigtmeir GE, Hepatitis B virus and Hepatitis D virus, Manual of Clinical Microbiology, 9 th Edition. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Londry ML, Pfaller MA (Ed.). 2007; 1641-1659.
57. Şemsettin U, Hakan A, Selim B. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. 1.Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2004: 183-198.
58. Kurt H. Klinik bulgular. Kılıçturgay K, Badur S (Ed.). Viral hepatit 2001, 1. Baskı, Viral Hepatitle Savaşım Derneği yayını, İstanbul, 2001; 129-134.
59. Murray PR. Rosenthal KS. Pfaller MC. Tıbbi Mikrobiyoloji. Başustaoğlu AC ve ark. (Çeviren), 6.Baskı. Ankara: Atlas, 2010
60. Taş T. Salt Anti Hepatit B Virüs Core Antikoru Pozitif Kan Donörlerinde Hepatit B Virüs DNA Tespiti. Uzmanlık Tezi, Isparta. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilimdalı, 2009.
61. Eds. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH ve ark. Manual of Clinical Microbiology 9th. Ed., Washington, D.C., ASM Press, 2007: Bölüm 110: 1641-1659. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT ve ark. (Çeviren) . 9. Baskı, İstanbul: Atlas, 2009
62. Mustafa A, Özlem Y. Viral Hepatitlerin Tanısında Serolojik ve Moleküler Testler. 'Viral Hepatit 2013'. Fehmi T, SelmaT(Ed). Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını. 1.Baskı, İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2013; 161-180
63. Akhan SÇ. Kronik Hepatit B'de Tanı. "Kronik Hepatitlerin Tanı ve Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar". Köksal İ, Leblebicioğlu H (Ed). Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2009
64. Zaaijer HL, Borg FT, Cuypers HTM, et al. Comparison of methods for detection of hepatitis B virus DNA. J Clin Microbiol 1994; 32: 2088-91.

65. Koziel MJ, Siddiqui A. Hepatitis B Virus and Hepatitis Delta Virus. Principles and Practice of Infectious Diseases. İn: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (ed.). Philadelphia, Churchill-Livingstone; 2005; 1864-1885.
66. Etiz N, Türtoğlu S. Viral Hepatitlerin Tanısında Kullanılan Testler ve Standardizasyon. Viral Hepatit 2005. İn: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (ed.). Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 2005; 128- 150.
67. Hoofnagle JH, Seef LB, Bales ZB, Zimmerman HJ. The type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. N Engl J Med 1978; 298: 1379-83.
68. Hu KQ. Occult Hepatitis B Virus Infection and its Clinical Implications. Journal of Viral Hepatitis 2002; 9(4): 243-57.
69. Lorient MA, Marcellin P, Bismuth E, Demonstration of Hepatitis B Virus DNA by Polymerase Chain Reaction in the Serum and the Liver after Spontaneous or Therapeutically Induced HBeAg to anti-HBe or HBsAg to anti-HBs Seroconversion in Patients with Chronic Hepatitis B. Hepatology, 1992;15(1): 32-36.
70. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D, et al. Transmission of hepatitis B from hepatitis B seronegative subjects. Lancet, 1988; 2: 1273-1276.
71. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. J Viral Hepatol 1997; 4: 11-20.
72. Melegari M, Bruno S, Wands JR. Properties of Hepatitis B Virus Pre-S1 Deletion Mutants. Virology, 1994; 199: 292- 300.
73. Chen PM, Fan S, Liu JH, et al. Reactivation of hepatitis B virus infection in two chronic GVHD patients after transplantation. Int J Hematol, 1993; 58: 183-188.
74. Demir M, Göktürk HS, Serin E. Gizli Hepatit B Virus Enfeksiyonu. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol, 2009; 16(1): 11-20.
75. Bouffard P, Lamelin JP, Zoulim F, et al. Different forms of hepatitis B virus DNA and expression of HBV antigens in peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis B. J Med Virol, 1990; 31: 312-317.
76. Feray C, Zignego AL, Samuel D, et al. Persistent hepatitis B virus infection mononuclear blood cells without concomitant liver infection. The liver transplantation model. Transplantation, 1990; 49: 1115-1158.

77. Blackberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol*, 2000; 33: 992-997.
78. Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology*, 1995; 22: 1101-1108.
79. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med*, 1999; 341: 22-26.
80. Guirgis BSS, Abbas RO, Azzazy HME. Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications. *International Journal of Infectious Diseases*. 2010; 14: 941-953.
81. Kasapoğlu B, Türkay C. Okült (OCCULT) Hepatit B Enfeksiyonu. *Güncel Gastroenteroloji*. 2007; 11: 51-56.
82. Yotsunayanagi H, Yasuda K, Lino S, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998; 27: 1377-1382.
83. Berasain C, Betes M, Panizo A, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasaemia of un Known etiology. *Gut* 2000; 47: 429-35.
84. Ikeda K, Kobayashi M, Someya T, et al. Occult hepatitis B virus infection increases hepatocellular carcinogenesis by eight times in patients with non-B, non-C liver cirrhosis: a cohort study. *J Viral Hepat* 2009; 16:437-43.
85. Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M, et al. Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol* 1999; 58: 201-207.
86. Schreiber GB, Bush MP, Keinman SH, et al. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996; 334:1685-1690.
87. Mphahlele MJ, Lukhwareni A, Burnett RJ, et al. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients from South Africa. *J Clin Virol*. 2006; 35(1): 14-20.
88. Altındış M, Uslan İ, Çetinkaya Z. ve ark. Hemodiyaliz Hastalarının Gizli Hepatit B Varlığı Yönünden Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2007; 41: 227-233
89. Raimondo G, Navarra G, Mondello S, et al. Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease. *J Hepatol*. 2008; 48(5):743-6.

90. Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H. HBV-DNA in hemodialysis patients infected by HCV. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2009; 20(3): 398-401.
91. Aghakhani A, Banifazl M, Velayati AA, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients: a concept for consideration. *Ther Apher Dial* 2012; 16(4); 328-33.
92. Boyacıoğlu S. Hemodiyaliz ve böbrek naklinde hepatitis B virus enfeksiyonu. Kronik B ve delta hepatiti tanı ve tedavisi 'ulusal uzlaşma toplantısı' III.Ulusal Hepatoloji Kongresi Kitabı 1999; 50-58.
93. Doğukan A, Taşkan H, Güven M ve ark. Prediyaliz, hemodiyaliz ve sürekli ayaktan periton diyalizi hastalarında çift doz hepatit B aşısına yanıt. *Türk Nefroloji Diyaliz Hipertansiyon ve Transplantasyon Dergisi* 1999; 4: 192-194.
94. Fabrizi F, Martin P. Hepatitis B virus infection in dialysis patients. *Am J Nephrol* 2000; 20: 1-11.
95. Fabrizi F, Messa PG, Lunghi G et al. Occult hepatitis B virüs infection in dialysis patients: a multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21: 1341-7.
96. Cabrerizo M, Bartolome J, Caramelo C, et al. Molecular analysis of hepatitis B virus DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells from hepatitis B surface antigen-negative cases. *Hepatology* 2000; 32: 116-23.
97. Oesterreicher C, Hammer J, Koch U et al. HBV and HCV genome in peripheral blood mononuclear cells in patients undergoing chronic hemodialysis. *Kidney Int* 1995; 48: 1967-71.
98. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 40: 1072-7.
99. Marrero JA, Lok AS. Occult hepatitis B virus infection in patients with hepatocellular carcinoma: innocent bystander, cofactor, or culprit? *Gastroenterology* 2004; 126: 347-50.
100. Motta JS, Mello FC, Lago BV, et al. Occult hepatitis B virus infection and lamivudine-resistant mutations in isolates from renal patients undergoing hemodialysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 101-106.
101. Minuk GY, Sun DF, Greenber R, et al. Occult hepatitis B virüs infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004; 21: 1341-7

102. Siagris D, Christofidou M, Triga K, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patient with chronic HCV infection. *J Nephrol* 2006; 19: 327-33.
103. Di Stefano M, Stallone G, Tartaglia L, et al. Ocult HBV infection in hemodialysis setting is marked by presence of isolated antibodies to HBcAg and HCV. *J Nephrol* 2009; 22: 381-6.
104. Mina P, Georgiadou SP, Rizos C, et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patient from central Greece. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 225-231.
105. Aghakhani A, Banifazl M, Kalantar E, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patient with isolated hepatitis B core antibody: a multicenter study. *Ther Apher Dial* 2010; 2: 113-120.
106. Ismail H, Soliman M, Ismail N. Occult hepatitis B virus infection in Egyptian hemodialysis patients with or without hepatitis C virus infection. *Pathol Lab Med Int* 2010; 16: 225-31
107. Abu El Makarem MA, Abdel Hamid M, Abdel Aleem A, et al. Prevalence of occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients from Egypt with or without hepatitis C virus infection. *Hepat Mon* 2012; 12: 253-258.
108. Albuquerque ACC, Coelho MRCD, Lemos MF, et al. Occult hepatitis B virus infection in hemodialysis patients in Recife, State of Pernambuco, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45: 558-562.
109. Tereul JL, Mateos LA, Fernandez L, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients treated with chronic hemodialysis. *Nefrologia* 2005; 23: 83-84.
110. Joukar F, Mansour-Ghnael F, Beshraati S, et al. Occult hepatitis B infection in a hemodialysis population in Guilan province, northern Iran. *Hemodial Int* 2012; 16: 294-297.
111. Sav T, GURSOY S, TORUN E et al. Occult HBV infection in continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Ren Fail* 2010; 32: 74-77.
112. Yakaryilmaz F, Gurbuz OA, Guliter S, Mert A, .Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis C virus infection in Turkish hemodialysis patients. *Ren Fail* 2006;28:729-35
113. Ersoy O, Yılmaz R, Arici M ve ark. Prevalence of occult hepatitis B infection in hemodialysis patients. *Dialysis Transplant* 2008;362-368.



114. Goral V, Okzul H, Tekes S ve ark. Prevalence of occult HBV infection in hemodialysis patients with chronic HCV. *World J Gastroenterol* 2006; 7: 3420-3424.
115. Doğukan M, Kizirgil A, Doğukan A. The Investigation of Occult Hepatitis B Infection in Hemodialysis, Peritoneal Dialysis, and Predialysis Patients by the Polymerase Chain Reaction Method. *Turkish Nephrology, Dialysis and Transplantation Journal*. 2009; 2: 55-61.
116. Hollinger FB, Sood G. Occult hepatitis B virus infection: a covert operation. *J Viral Hepat* 2010; 17: 1–15.
117. Ramezani A, Banifazl M, Eslamifar A, Aghakhani A. Serological pattern of anti-HBc alone infers occult hepatitis B virüs infection in high-risk individuals in Iran. *J Infect Dev Ctries* 2010; 4: 658–661.
118. Ramezani A, Banifazl M, Mohraz M et al. Occult hepatitis B virus infection: a major concern in HIV-infected patients. *Hepat Mon* 2011; 11: 7–10.
119. Grob P, Jilg W, Bornhak H et al. Serological pattern “anti-HBc alone”: report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62: 450–5.
120. Lok AS. Chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2002; 346:1682–3.
121. Pondé RA, Cardoso DD, Ferro MO. The underlying mechanisms for the “anti-HBc alone” serological profile. *Arch Virol* 2010; 155: 149–58.
122. Hamkar R, Aghakhani A, Soufian S et al. Surface gene mutations of hepatitis B virus among high-risk patients with occult hepatitis B virus infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 66: 285–291.
123. Carpenter PA, Huang ML, McDonald GB. Activation of occult hepatitis B from seronegative patient after hematopoietic cell transplant: a cautionary tale. *Blood* 2002; 99: 4245-4246.
124. Khattab E, Chemin I, Vuillermoz I, et al. Analysis of HCV co-infection with occult hepatitis B virus in patients undergoing IFN therapy. *J Clin Virol* 2005; 33: 150-157.
125. Shih CM, Lo SJ, Miyamura T, Chen SY, Wu LYH. Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HuH-7 cells. *J Virol* 1993; 67: 5823–5832.

126. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Low-level viremia and intracellular expression of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in HBsAg carriers with concurrent hepatitis C infection. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2084–2086.
127. Chemin L, Zoulin F, Merle P, et al. High incidence cases of unknow aetiology. *J Hepatol* 2011;34: 447-454.
128. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002; 1: 4068-4071.
129. Silva C, Goncales NS, Pereira JS, et al. The influence of occult infection with hepatitis B virus on liver histology and response to interferon treatment in chronic hepatitis C patients. *Braz J Infect Dis* 2004; 8: 431-439.
130. Sheu JC, Lee SH, Wang JT, et al. Prevalence of anti-HCV and HCV viremia in hemodialysis patients in Taiwan. *J Med Virol* 1992; 37: 108–112.
131. Lin DY, Lin HH, Hunan CC, et al. High incidence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients in Taiwan. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 288–291.
132. Guh JY, Lai YH, Yang CY et al. Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients. *Nephron* 1995; 69: 459–465.
133. Habibollahi P, Safari S, Daryani NE, Alavian SM. Occult hepatitis B infection and its possible impact on chronic hepatitis C virus infection. *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15: 220–224.
134. Fabrizi F, Mangano S, Alongi G et al. Influence of hepatitis B virus viremia upon serum aminotransferase activity in dialysis population. *Int J Artif Organs* 2003; 26: 1048–1055.
135. Afyon M, Avcı İY, Ülçay A, et al. Replication Occult Hepatitis B Virus Infection *J Clin Anal Med* 2013; 4(5): 435-9.

