

Klinik Çalışma

# Laboratuvarımızda Kronik Hepatitli Hastalara Ait HBV DNA ve HCV RNA Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Yasemin Bayram\*, Mehmet Parlak\*\*, Aytekin Çıkman\*\*\*, Bilge Gültepe\*

## Özet

**Amaç:** Çalışmada kronik Hepatit B virüs (HBV) ve Hepatit C virüs (HCV) hastalarının takibinde ve tedaviye yanıtın izlenmesinde önemli yer tutan HBV DNA ve HCV RNA testi sonuçlarının irdelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ocak 2011 ve Mart 2012 tarihleri arasında serum örneklerinde çalışılan 703 HBV DNA ve 71 HCV RNA moleküler testi sonuçları geriye dönük incelenmiştir. HBV DNA ve HCV RNA testi real-time polimeraz zincir reaksiyonu (COBAS® TaqMan® High Pure HBV ve HCV sistem, Roche, Almanya) yöntemiyle çalışılmıştır. HBV DNA pozitifliğinin cinsiyetler arasında istatistik açıdan incelenmesi için Z Testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan 703 HBV-DNA testinin 168'i erkek, 94'ü kadın olmak üzere toplam 262 (%37) hastada viral yük  $10^4$  kopya/ml üzerinde saptanmıştır. Pozitif olarak kabul ettiğimiz hastaların erkek ve kadın oranları sırasıyla %36 ve %39 olarak tespit edilmiş olup bu fark istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır. HBV DNA için kopya sayısı  $10^4$  ve üzeri saptanan 30 (%11) hastada tedavi takibi amacı ile test tekrar istenmiştir. HBV DNA negatif saptananlarda test tekrar oranı %6 olarak bulunmuştur. HCV-RNA testi uygulanan 71 hastanın 7'si erkek, 3'ü kadın olmak üzere toplam 10 hastada (%14) kopya sayısı  $10^4$  ve üzeri saptanmıştır.

**Sonuç:** Kronik HBV ve HCV gibi enfeksiyonları ilimizde yüksek oranda görülmektedir. Bu nedenle nükleik asit saptama tetkiklerinin takibinin yapılarak periyodik olarak bildirilmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca bu alanda daha kapsamlı çalışmaların yapılmasının gerekliliği ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** HBV DNA, HCV RNA

Hepatit B virüs (HBV), Hepadnaviridae ailesinde kısmi çift sarmallı, zarflı DNA virüsü olup karaciğerde replike olarak immün aracılı mekanizmalarla karaciğer hasarına neden olmaktadır. HBV ile birlikte kronik hepatitlerin başlıca nedenlerini oluşturan Hepatit C virüs (HCV) ise Flaviviridae ailesinde yer alan tek sarmallı ve zarflı RNA virüsüdür.

HBV gibi karaciğerde replike olmakta ve karaciğer anormalliklerine neden olarak siroz, karaciğer hasarı ve HCC'yi de içine alan ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır (1, 2). Serum HBV DNA ve HCV RNA düzeylerinin belirlenmesi, virüs replikasyonunun izlemi ve tedavi yanıtının değerlendirilmesinde önemli bir gösterge olarak bilinmektedir (3, 4).

HBV için viral yükün hepatosellüler karsinoma (HCC) ve sirozla yakın ilişkili olduğu öne sürülmektedir. Viral yükün  $10^5$  kopya/ml'nin üzerinde olduğu durumlarda bunun tespit edilemeyecek düzeyde olanlara göre HCC riski altı kat daha fazladır (5, 6). Bu nedenle viral yükün saptanması ve takibi ileride gelişecek olan komplikasyonların varlığı açısından çok önem arz etmektedir.

Bu çalışmada; hastanemizde bir yıllık süre içerisinde kronik HBV ve HCV hastalarının takibinde ve tedaviye yanıtın izlenmesinde önemli yer tutan HBV DNA ve HCV RNA testi sonuçlarının irdelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yürütülmüştür. 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No. PP102 (5-8 Haziran 2012, Ankara)

\* Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

\*\* Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van

\*\*\* Mengücek Gazi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Erzincan

**Yazışma Adresi:** Uz. Dr. Mehmet PARLAK

Van Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi,

Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van

Tel: +90 505 223 40 36

E-mail: mehmetparlak65@hotmail.com

Makalenin Geliş Tarihi: 17.07.2012

Makalenin Kabul Tarihi: 15.08.2012

## Gereç ve Yöntem

Hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarında Ocak 2011 ve Mart 2012 tarihleri arasındaki dönemde serum örneklerinde çalışılan HBV-DNA ve HCV-RNA moleküler testi sonuçları geriye dönük incelenmiştir. Toplam 703 hastada HBV DNA ve 71 hastada HCV RNA testi çalışılmıştır. Viral nükleik asit ekstraksiyonu, 200 µl serum örneğinden High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Applied Science, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Serum nükleik asit kantitasyonu ise real time PCR yöntemi ile (COBAS® TaqMan® High Pure HBV ve HCV sistem, Roche, Almanya) üretici firmanın önerileri doğrultusunda belirlenmiştir. Bu yöntemle HBV DNA için saptama sınırı 6 IU/ml, lineer aralığı; 29-1.1x10<sup>8</sup> IU/ml iken HCV RNA için saptama sınırı 8.8 IU/ml, lineer aralığı; 25-3,91x10<sup>8</sup> arasındadır.

HBV DNA pozitifliğinin cinsiyetler arasında istatistik açıdan incelenmesi için Z Testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır.

## Bulgular

HBV-DNA testi uygulanan 703 hastanın 463'ü (% 66) erkek, 240'ı (% 34) kadın olarak belirlendi. Çalışmaya alınan 703 HBV-DNA testinin 208'i (%30) 10<sup>4</sup>-10<sup>7</sup> kopya/ml arasında, 54'ü (%7) 10<sup>7</sup> kopya/ml üzerinde saptanmıştır. Kopya sayısı 10<sup>4</sup> ve üzeri saptanan 262 hastanın; 0-20 arasında 32 hasta, 20-40 arasında 144 hasta, 40 yaş üzeri 86 hasta olduğu belirlenmiştir. Kopya sayısı 10<sup>4</sup> ve üzeri saptanan hastalarda 168'i (% 64) erkek, 94'ü (% 36) kadın olarak belirlenmiştir. HBV DNA pozitiflik oranı erkeklerde ve kadınlarda sırasıyla % 36 ve % 39 olarak tespit edilmiş olup bu fark istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır. HBV DNA testi uygulanan hastaların yaş ve cinsiyetlere göre dağılımı tabloda verilmiştir.

Tablo. HBV DNA testi uygulanan hastaların yaş ve cinsiyetlere göre dağılımı

| Yaş Aralığı | 104-107  |       | >107     |       | Toplam |
|-------------|----------|-------|----------|-------|--------|
|             | kopya/ml |       | kopya/ml |       |        |
|             | Erkek    | Kadın | Erkek    | Kadın |        |
| 0-20        | 10       | 4     | 7        | 11    | 32     |
| 20-40       | 79       | 38    | 18       | 9     | 144    |
| 40-60       | 44       | 30    | 6        | 2     | 82     |
| >60         | 3        | 0     | 1        | 0     | 4      |
| Toplam      | 136      | 72    | 32       | 22    | 262    |

HBV DNA için kopya sayısı 104 ve üzeri saptanan 30 (% 11) hastada tedavi takibi amacı ile test tekrar istenmiştir. HBV DNA negatif saptananlarda test tekrar oranı %6 olarak bulunmuştur. HCV-RNA testi uygulanan 71 hastanın; 7'si erkek, 3'ü kadın olmak üzere 10'unda (% 14) kopya sayısı 104 ve üzeri saptanmıştır. HCV RNA pozitiflik oranı erkeklerde ve kadınlarda sırasıyla % 19 ve % 12 olarak tespit edilmiş olup pozitiflik sayısının az olması nedeni ile istatistik değerlendirme yapılamamıştır.

## Tartışma

Kronik HBV enfeksiyonu tedavisinin amacı HBV replikasyonunu durdurarak siroz, karaciğer yetmezliği ve HCC gelişimini önlemektir. Bu noktada birincil hedef HBV-DNA'nın azalması ya da negatifleşmesidir (7).

Serum HBV DNA düzeyi, farklı klinik durumlarda HBV replikasyonunun yönetiminde spesifik ve etkili göstergedir (3). Ayrıca HBV DNA düzeylerinin seri izlemi tedavi gereksiniminin tahmini ve belirlenmesinde gelişigüzel yapılan herhangi bir testten daha önemlidir (8). HBV DNA miktarının kantitatif ölçülmesi kullanılan tedavi şemasının etkili olup olmadığını anlamamıza, tedavi süresini ve dozunu belirlememize ve gerektiği durumlarda tedaviyi değiştirmemize yardımcı olmaktadır (9).

Kronik HBV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılan Pegile-interferon için HBV DNA izlem sıklığı, tedavi süresince her 3-6 ayda bir, tedavi bitiminde ve tedavi kesildikten sonra her 6 ayda bir şeklindedir. Nükleoz(t)id analogu kullanan hastalarda ise tedavi süresince HBV DNA düzeyleri her 3-6 ayda bir bakılmalıdır. Tanı konulan hastalarda HBV DNA ilk 3 ay boyunca erken relapsı saptayabilmek açısından her ay, tedaviye yanıtsızlarda her 3 ayda bir, tedaviye yanıtı olgularda ise 6 ayda bir bakılmalıdır (10). Çalışmamızda HBV DNA yüksek ve normal bulunan hastalarda test tekrar oranı sırasıyla %11 ve %6 olarak belirlenmiştir. Her ne kadar bu sonuç hastanemizde kronik HBV enfeksiyonu takibinin yeterli düzeyde olmadığını göstermekte ise de ALT düzeyleri, biyopsi skorları, HBeAg, anti-HBc sonuçları ve tedavi alıp almadıkları bilinmediğinden bu konuda daha kapsamlı bir çalışma yapılması gerekliliğini ortaya konmuştur.

HBV DNA pozitiflik oranları incelendiğinde Özbilge ve ark (11) 1000 kopya ve üzerini pozitif kabul ettikleri çalışmalarında HBV DNA pozitifliğini %41 oranında bildirmişlerdir. On bin kopya ve üzerini değerlendirmeye aldığımız çalışmamızda pozitiflik oranı %37 olarak saptanmış olup yukarıdaki çalışma ile bulunan bu

fark, pozitiflik kriterinin değişkenliğine bağlanmıştır. HBV pozitifliği ile cinsiyetler arasındaki ilişki açısından yapılan çalışmalar incelendiğinde; cinsiyetler arasında fark olmadığı, erkeklerde veya kadınlarda daha yüksek oranda saptandığı belirtilen farklı sonuçlar bildirilmiştir (12, 13). Çalışmamızda HBV DNA pozitifliği açısından cinsiyetler arasında saptanan fark istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır.

HCV RNA genellikle virüs alındıktan sonra 1-2 hafta içinde saptanabilir. Tedavi planlanan hastalarda ve tedavi takibinde HCV RNA kantitatif olarak belirlenmelidir (14). HCV-RNA düzeylerinin kantitasyonu HCV enfeksiyonu olan hastaların tedavi izleminde önemlidir. Tedavi öncesi düzeyler, interferon ribavirin tedavisine yanıtı değerlendirmede prognostik değere sahip olabileceği gibi, RNA düzeylerinin tedavi sırasında düşüşleri kalıcı virolojik yanıt ile ilişkilidir (4). Çalışmada on hastada HCV RNA pozitif saptanmış olup tedavi takibinde hastalarda testin tekrar edilmediği saptanmıştır.

Sonuç olarak kronik Hepatit B ve C gibi enfeksiyonların görülme oranının yüksek olduğu ilimizde, negatif hastaların izlenmesi ve pozitif hastaların tedavi yanıtının değerlendirilmesinde nükleik asit saptama tetkiklerinin takibi büyük önem taşımaktadır. Bu enfeksiyonların önlenmesi açısından bu gibi çalışmaların periyodik olarak bildirilmesi ve ALT düzeyleri, biyopsi skorları, HBeAg, anti-HBc sonuçları ve tedavi alıp almadıkları gibi verilerle birlikte daha kapsamlı bir çalışma yapılması gerekliliği ortaya konmuştur.

#### Investigation of HBV DNA And HCV RNA Results of Chronic Hepatitis Patients In Our Laboratory

##### Summary

**Objective:** The aim of this study was to evaluate of HBV DNA and HCV RNA test results which take important place in follow-up procedure for patients with chronic Hepatitis B virus (HBV) and Hepatitis C virus (HCV) infection and evaluation of the response to the therapy.

**Material and Method:** A total of 703 HBV DNA and 71 HCV RNA molecular test results from serum samples collected between January 2011 and March 2012 were retrospectively examined. HBV DNA and HCV RNA were analyzed by real-time polymerase chain reaction (COBAS® TaqMan® High Pure HBV ve HCV system, Roche, Germany). For statistical analysis of HBV DNA positivity between sexes, Z test rate comparison was used.

**Results:** From 703 HBV-DNA tests used in the study, in 262 (37%) patients including 168 men (64%) and 94 (36%) women, the viral load was found to be higher than  $10^4$  copies/ml. The rates of patients accepted as positive were 36% and 39% for men and women, respectively, and observed difference was not found statistically important. For 30 patients (11%) with more than  $10^4$  number of copies of HBV DNA, repeated test was required for follow-up procedure purpose. HBV DNA negative patients test repeat rate was found as 6%. HCV-RNA test was performed on 71 patients and in 10 patients (14%), including 7 men and 3 women, number of copies was higher than  $10^4$ .

**Conclusion:** Chronic HBV and HCV infections are highly prevalent disease in our province. Therefore, the follow-up and periodically reporting of nucleic acid examinations are very important. In addition, this has been revealed that more extensive studies should be conducted in this area.

**Key Words:** HBV DNA, HCV RNA

#### Kaynaklar

1. Riaz M, Idrees M, Kanwal H, Kabir F. An overview of triple infection with hepatitis B, C and D viruses. *Viral J* 2011; 8:368.
2. Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, et al. Diagnosis of Infection Caused by viruses. In: Koneman's Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Edition, p: 1327-1419, Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
3. Yalçın K, Değertekin H, Alp MN, Tekeş S, Satıcı Ö, Budak T. Determination of serum hepatitis B virus DNA in chronic HBsAg carriers: Clinical significance and correlation with serological markers. *Türk J Gastroenterol* 2003; 14(3):157-163.
4. Altuğlu İ, Yazan Sertöz R, Zeytinoğlu A, Şahin H, Erensoy S. Hepatit C Virus-RNA (HCV-RNA) Kantitasyonunda Cobas Amplicor HCV Monitor Test V2.0 İle Realart HCV Rg RT PCR Testinin Karşılaştırılması. *İnfeksiyon Derg* 2005; 19(1):1-4.
5. Wright TL. Introduction to chronic hepatitis B infection. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(1):1-6.
6. Tsai WL, Chung RT. Viral hepatocarcinogenesis. *Oncogene*. 2010; 29(16):2309-2324.
7. Aydın K. Kronik Hepatit B'de Güncel Tedavi. *ANKEM Derg* 2006; 20(2):203-207.
8. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50(3):661-662.
9. Köse Ş, Oğuz Gülcü F, Topaloğlu S, İyi T. Hepatit B Virus (HBV) DNA Düzeyleri ile Serum Alanin Aminotransferaz Düzeyleri ve HBV Serolojik Göstergeleri Arasındaki İlişki. *Viral Hepatit Derg* 2011; 17(2):57-61.

10. Sünbül M. Kronik Hepatit B’de Güncel Tedavi. ANKEM Derg 2008; 22:53-56.
11. zbilge H, Zeyrek FY, Uzala Mzraklı A, Tümkaya B. Hepatit B Virus DNA Pozitifliği ve Serolojik Testler. Erciyes Tıp Derg 2005; 27(1):17-21.
12. Zhang H, Li Q, Sun J, Wang C, Gu Q, Feng X et al. Seroprevalence and risk factors for hepatitis B infection in an adult population in Northeast China. Int J Med Sci. 2011; 8(4):321-331.
13. Scaraveli NG, Passos AM, Voigt AR, Livramento A, Tonial G, Treitinger A, et al. Seroprevalence of hepatitis B and hepatitis C markers in adolescents in Southern Brazil. Cad Saude Publica 2011; 27(4):753-758.
14. II. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi Konsensus Toplantısı Raporu, Hepatit C Enfeksiyonunda Tanı ve Tedavi. Viral Hepatit Derg 2008; 13(2):57-65.