



# BİRÜNİ

## LABORATUVARI

<http://www.biruni.com.tr> e-posta: [info@biruni.com.tr](mailto:info@biruni.com.tr)



## HEPATİT B VİRUS (HBV) İNFEKSİYONLARINDA SEROLOJİK GÖSTERGELER

Günümüzde Hepatit B Virus (HBV) infeksiyonları ciddi bir sağlık sorunudur. Dünyada yaklaşık 2 milyar kişi HBV ile infektidir. HBV'ye bağlı akut viral hepatit olgularının ortalama %5'inin kronikleştiği ve bunların önemli bir kısmının da siroza ve hepatosellüler kansere dönüştüğü bilinmektedir. Ayrıca kronik HBV infeksiyonu dünyada önde gelen ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Türkiye'de yaklaşık 3 milyon HBV taşıyıcısı bulunmaktadır. Bu yüzden ciddi bir sağlık problemi olan HBV ile mücadelede başarılı olmak için serolojik tanı yöntemlerinin iyi bilinmesi önemlidir. HBV, Hepadna virus ailesinden zarflı bir DNA virusu olup, sadece insanları infekte eder (Tablo 1). HBV infeksiyonunun klinik tanı ve takibi serum ve plazmada viral proteinlerin (HBsAg, HBeAg) veya bunlara karşılık gelen antikorların (anti HBs, anti HBe, anti HBc IgM ve anti HBc total) saptanması esasına dayanır.

Tablo 1. HBV infeksiyonunun bulaşma yolları

Cinsel ilişki
Parenteral bulaşma (kan transfüzyonu, kontamine olmuş kesici-delici aletler)
Vertikal bulaşma (HBV ile infekte anneden bebeğe: transplasental, perinatal, postnatal)
Horizontal bulaşma (yakın ilişkiye dayalı yaşam koşullarında bulaşma)

### HBsAg

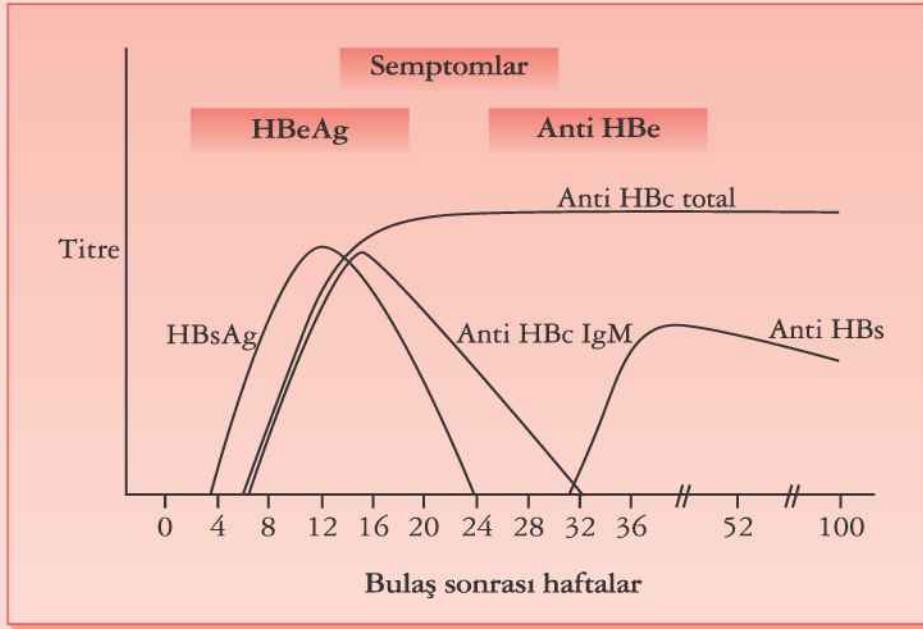
HBsAg, akut HBV infeksiyonunda ALT düzeyindeki değişikliklerden 2-4 hafta, semptomların başlangıcından ise 3-5 hafta önce ve inkubasyon periyodu süresince serumda saptanabilir (Şekil 1).

HBsAg'nin varlığı hem akut hem de kronik infeksiyonu gösterir. 4-6 ay içinde serumda yavaş yavaş azalarak saptanamayacak düzeye iner. 6 aydan uzun süre serumda bulunması infeksiyonun kronikleştiğini gösterir (Şekil 2). Bu hastalarda genelde HBeAg de pozitifdir. Çocuklarda HBV aşılmasını takiben geçici olarak HBsAg pozitifliği saptanabilir.

Serumda HBsAg'nin ELISA gibi duyarlı yöntemlerle saptanabilmesi için mililitrede  $3 \times 10^7$  virion bulunmalıdır. Ancak mutasyonlar HBsAg testlerinin performansını etkilemektedir. Test sırasındaki analitik hatalar, ELISA yöntemine bağlı kros kontaminasyon, antikoagülanlı örnekler yalancı pozitif reaksiyonlara neden olabilir. Bu nedenle HBsAg pozitifliği mutlaka başta anti HBc total olmak üzere diğer bir serolojik parametre ile doğrulanmalıdır.

### Anti HBs

Anti HBs, serumda HBsAg'nin kaybolmasından hemen veya başka bir deyişle hastalık geliştikten 3 ay sonra ortaya çıkar (Şekil 1). Aslında anti HBs serokonversiyonunun daha erken oluştuğu, fakat HBsAg fazlalığında meydana gelen immun komplekslerin bunu maskeleydiği kabul gören bir görüştür. Anti HBc total ile birlikte veya sadece anti HBs pozitifliği immunité göstergesidir. HBV aşısı ile aşılanan bireylerde tek başına anti HBs pozitifliği görülür. Ayrıca HBV taşıyıcılarının %10-40'ında düşük titrede anti HBs bulunabilir. Bu durum, mekanizması kesin olmamakla birlikte farklı subtiplerle aynı zamanda infeksiyon oluşmasına



Şekil 1. Akut HBV İnfeksiyonunun Seyri

bağlanmaktadır. Anti HBs kişilerde hayat boyu kalıcıdır.

#### *Anti HBs ve anti HBc pasif olarak da,*

- İmmünglobulinlerin ve antikoagülanların tedavi amaçlı uygulandığı kişilere,
- Hepatitli anneden yenidoğana ve
- Kan transfüzyonu yapılmış kişilere aktarılabilir.

Yukarıda belirtilen bu olasılıkların bilinmesi olguların geçirilmiş HBV enfeksiyonu şeklinde yanlış olarak yorumlanmasını engeller. Pasif olarak geçen antikorlar 3-6 ay sonra serumda kaybolurken, aktif olarak kazanılmış antikorlar ömür boyu kalır.

### **HBsAg, Anti HBe**

HBsAg, viral replikasyonun devam ettiğini ve infektiviteyi gösterir. HBsAg ile aynı zamanda veya kısa bir süre sonra pozitifleşir. Replikasyon göstergesi olan bu parametre pozitif ise hastanın yüksek miktarda HBV içerdiği, dolayısıyla enfeksiyonu daha kolay bulaştıracığı düşünülür. HBsAg'nin 10 haftadan daha uzun süre devam etmesi enfeksiyonun kronikleşebileceğinin belirtisi olabilir (Şekil 2). HBsAg'ye karşı antikorlar; erken nekahat döneminde, HBsAg'nin kaybolmasından hemen ya da 1-2 hafta sonra ortaya çıkar (Şekil 1). Bazı olgularda çok kısa bir dönem HBsAg ile birlikte pozitif kalabilir. Anti HBe'nin saptanması viral replikasyonun azaldığının ve hastalığın iyileşmeye doğru yöneldiğinin göstergesi olarak kabul edilir. Kronik HBV enfeksiyonunda tedavi ile HBsAg'nin kaybolması ve anti HBe antikorlarının oluşması hedeflenmektedir. Bu

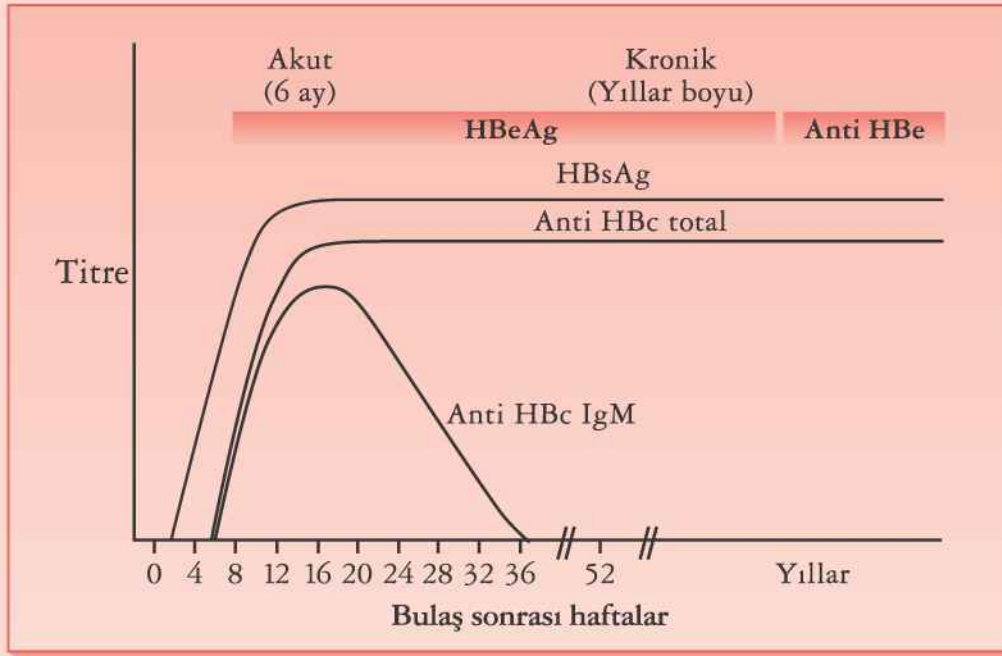
nedenle, anti HBe tedavinin izlenmesinde önemli bir göstergedir.

### **Anti HBc**

Akut HBV enfeksiyonunda HBsAg'nin saptanmasından 1-4 hafta sonra ve serum ALT düzeylerindeki değişikliklerle aynı zamanda anti HBc IgM titresinde de artış görülür. Anti HBc IgM yüksek titreleri akut HBV enfeksiyonunu gösterir. İnfeksiyonu izleyen dönemde baskın olan IgM 4-6 ay sonra azalır ve yerini artan titrelerde anti HBc IgG'ye bırakır. HBsAg'nin serumda kaybolup anti HBs gelişinceye kadar geçen "pencere döneminde" anti HBc IgM varlığı akut enfeksiyonu gösteren en önemli parametredir (Şekil 1). Pencere dönemi ortalama 2-8 hafta kadar sürer; ancak bir yıla kadar da uzayabileceği bildirilmektedir.

Anti HBc IgM'nin serumdaki varlığının devam etmesi hastalığın kronikleşeceğinin işaretidir (Şekil 2). Ancak tamamen iyileşmiş bireylerde ve kronik HBV enfeksiyonlu birçok olguda anti HBc IgM'nin yaklaşık 2 yıl kadar düşük titrede pozitif olarak saptanabileceği unutulmamalıdır. Kronik hepatitli olguların yaklaşık %5-15'inde, özellikle reaktivasyon döneminde, anti HBc IgM serumda pozitif olarak tesbit edilebilir. İyileşme sonrası anti HBc total uzun yıllar pozitif kalıp, olguların %90'ında yaşam boyu saptanabilir.

Serumda anti HBs negatif iken yüksek titrede anti HBc IgG'nin bulunması viral enfeksiyonun devam ettiğini gösterir. Anti HBs ile birlikte anti HBc IgG'nin düşük titrelerde saptanması ise HBV enfeksiyonunun çok eskiden geçirildiği anlamına gelir.



Şekil 2. Akut HBV İnfeksiyonunun Kronikleşmesi

**Diğer serolojik göstergeler olmaksızın salt anti HbC IgG antikorları;**

- Uzamış pencere dönemini,
- HbsAg'nin saptanamayacak kadar düşük olduğu kronik infeksiyonları,
- Ticari kitlerle HbsAg'nin saptanamadığı mutant virusların etken olduğu kronik infeksiyonları ve
- Pasif antikor aktarımını gösterebilir.

### **Olağan Dışı Serolojik Profiller**

**1-HBsAg negatif:** Ender de olsa tüm serolojik göstergeleri negatif bulunan kişilerin HBV taşıyabilecekleri ve bulaştırıcı olabildikleri yapılan bazı çalışmalarda kanıtlanmıştır. Özellikle HBsAg negatif kanların kullanılmasından sonra alıcılarda ortaya çıkan ve bugüne kadar nedeni açıklanamayan posttransfüzyonel HBV infeksiyon kaynağının saptanması açısından önemlidir.

**2-Anti HBs / Anti HbC pozitif örnekler:** Antijenleri negatifleşmiş ve antikorları oluşmuş olguların bir bölümünde HBV DNA varlığının saptanması bu tip örneklerin bulaştırıcı olabileceklerini göstermektedir. Akut hepatit geçirdikten sonra klinik ve biyokimyasal açıdan tamamen iyileştiği saptanan olguların bir kısmında 70. ayda bile HBV DNA pozitif bulunmuştur. Ender de olsa anti HBs eşliğinde HBV DNA'ya rastlanabileceği unutulmamalıdır. Ancak böyle bir tablonun nedeni ve pratik önemi henüz netlik kazanmamıştır.

**3-HBeAg negatif / Anti HbC pozitif örnekler:** Klasik olarak HBeAg'nin varlığı replikasyon

göstergesi olarak kabul edilir ise de, birçok popülasyonda anti HBe ve HBV DNA'nın birarada pozitif buldukları gösterilmiştir. Anti HBe'nin serokonversiyonuna rağmen vireminin devam etmesi, prekor bölgesindeki bazı mutasyonlarla açıklanır. Sonuç olarak, HBV infeksiyonunun doğal seyri sırasında, replikasyon varlığında sentezlenen HBeAg üretimi çeşitli mutasyonlar sonucu kesintiye uğramakta ve anti HBe eşliğinde vireminin göstergesi olan HBV DNA pozitif bulunmaktadır.

### **Moleküler Yöntemler**

1980'li yılların sonunda herhangi bir serolojik gösterge saptanmayan (seronegatif) ancak HBV DNA pozitif bulunan kişilerin serumları deney hayvanlarına verildiğinde infeksiyonun ortaya çıkması, ayrıca seronegatif olup transaminazları yüksek bulunan donörlerde yapılan çalışmalar sonucunda bu kişilerin %9'unda HBV DNA'nın saptanması moleküler biyoloji tekniklerinin HBV tanısındaki önemini ortaya koymuştur. Bu nedenle, serolojik testlerin yetersiz kaldığı olağan dışı serolojik profillerin değerlendirilmesinde ve uygulanan tedavinin etkinliğinin izlenmesinde HBV DNA testlerine gereksinim vardır.

**Hibridizasyon:** Tüm HBV genomuna komplementer DNA ya da RNA problemleri kullanılarak serumda bulunan viral nükleik asitler saptanmakta ve miktarı belirlenebilmektedir. Bu yöntemle mutant viruslar ve atipik serolojik profiller de değerlendirilebilmektedir. Bu tip uygulamada 1 pg/mL HBV DNA, bir diğer deyişle mL'de  $10^5$  virüs partikülü saptamak olasıdır. Hibridizasyon yöntemi ile saptanan HBV DNA aktif viral

replikasyonun göstergesidir. Ancak hibridizasyon yönteminin duyarlılığının yetersiz kaldığı, örneğin; az sayıda bulunan DNA'nın saptanamadığı olgularda bu yöntem yerine, "ortamda eser miktarda nükleik asidi hibridizasyonla saptanabilir düzeye kadar çoğaltmak" şeklinde tanımlanabilen amplifikasyon metodları kullanılmaktadır. Bu teknikler arasında en sık kullanılan PCR yöntemidir.

**Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):** Kuramsal olarak ortamdaki tek bir genomu bile saptama özelliğine sahip, en özgül ve en duyarlı yöntemdir. Bu yöntemle serumda HBV DNA'nın amplifiye edilerek saptanması ve kantitasyonu mümkündür.

Serumda 10 kopya/mL miktardaki HBV DNA'yı saptayabilen bu testler; aşırı duyarlı olmaları nedeni ile düşük düzeyde HBV enfeksiyonu tanısında ve erken tanıda faydalıdır. PCR, hibridizasyona oranla  $10^4$  kez duyarlı bir testtir ve çok düşük miktarlardaki HBV DNA ( $10^2$ - $10^3$  viral genom/mL) saptanabilmektedir. Bu yöntemin avantajı antiviral tedavi altındaki HBeAg negatif olgularda ya da hibridizasyonla HBV DNA negatif bulunan hastalarda yanıtın izlenmesine ve antiviral direncin erken saptanmasına olanak sağlamasıdır.

**Mutant virus enfeksiyonlarında tanı:** HBV DNA'nın sekans analizi ile ilgili gen bölgelerindeki mutasyonlar saptanabilmektedir.

## Kaynaklar

1. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management and prevention of hepatitis B infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999;12: 351-366.
2. Hollinger FB. Hepatitis B virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds). *Fields Virology*, 1996; 2738.
3. Pontisso P, Ruvelotto MG, Fattovich G, et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993;105:1529-1533.
4. Bilgiç A, Özacar T. Hepatit B virusu. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. 1350-1370.
5. Ngu SL, Hallet R, Teo CG. National and iatrogenic variation in hepatitis B virus. *Rev. Med. Virol.* 1999; 9: 183-209.
6. Vyas GN, Yen TSB. Hepatitis B virus. Biology, pathogenesis, epidemiology, clinical description, and diagnosis. In: Specter S (ed). *Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy and Prevention*, 1999; 35-63.
7. Zuckerman AJ, Zuckerman NJ. Molecular epidemiology of hepatitis B virus mutants. *J. Med. Virol.* 1999; 193-195.
8. Bendinelli M, Pistello M, Freer G, Vatteroni M, Maggi F. Viral hepatitis. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B (eds). *Manual of Clinical Laboratory Immunology* 2002; 696-717.
9. Altınay B, Özacar T. Hepatit B ve D virusları. Ustaçelebi Ş (ed). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1999; 871-880.
10. Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. In: Murray PR (ed). *Manual of Clinical Microbiology* 1999; 1025-1042.
11. Etiz N, Türkoğlu S. Viral hepatit tanısında kullanılan testler ve standardizasyon. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds). *Viral Hepatit* 2005; 127-151.

### MECİDİYEKÖY

Büyükdere Caddesi,  
Gökfiliz İşhanı, Kat: 3  
34387 Mecidiyeköy - İstanbul  
Tel. : 217 41 41  
Faks : 217 41 10

### KADIKÖY

Cemil Topuzlu Cad. Fazilet Sitesi  
No: 44/1 D: 2 34726  
Çiftelavuzlar - Kadıköy - İstanbul  
Tel. : 369 17 67  
Faks : 369 01 61

### BAKIRKÖY

İncirli Caddesi, Santral Çıkmaşı,  
Toprak Blokları A Blok 1-2  
34147 Bakırköy - İstanbul  
Tel. : 570 88 60  
Faks : 570 93 00

### ETİLER

Tepecik Yolu, Tepe Apt.  
No: 3 D: 2  
34337 Etiler - İstanbul  
Tel. : 352 02 95  
Faks : 352 02 98

### NIŞANTAŞI

Valikonağı Caddesi,  
Çam Apt. No: 161 D: 10  
34363 Nişantaşı - İstanbul  
Tel. : 233 22 95  
Faks : 233 38 42

### ULUS

Etiler Adnan Saygun Cad.  
Uydu Sok. Gündüş Apt. No: 2/B  
34340 Ulus - İstanbul  
Tel. : 287 43 00  
Faks : 287 33 83

### ERENKÖY

Şemsettin Günaltay Cad.  
Manolya Apt. No: 214/1  
34738 Erenköy - İstanbul  
Tel. : 411 31 66  
Faks: 411 20 61