

**DİYALİZ HASTALARINDA OCCULT HEPATİT C'NİN
ARAŞTIRILMASI**

**Bio. Hatice Merve BAŞER
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ**

**Tez No:2014-003
2014-Afyonkarahisar**

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DİYALİZ HASTALARINDA OCCULT HEPATİT
C'NİN ARAŞTIRILMASI**

Bio. Hatice Merve BAŞER

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Bu Tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 12.SAĞBİL.12 proje numarası ile desteklenmiştir.


**Tez No: 2014-003
2014-AFYONKARAHİSAR**

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.01.2014

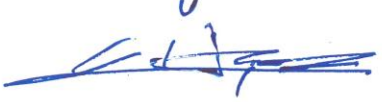

Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ
Sakarya Üniversitesi
Üye

Yrd. Doç. Dr. Gülşah AŞIK
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye


Doç. Dr. Recep KEŞLİ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye



Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi H. Merve Başer'in 'Diyaliz Hastalarında Occult Hepatit C'nin Araştırılması' başlıklı tezi 05./02./2014 günü saat 11.00'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Kağan ÜÇOK
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve tezimin hazırlanması sırasında bana yol gösteren, deneyimlerini paylaşan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini hiç bir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof.Dr. Mustafa ALTINDİŞ'e, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bana her zaman sevgi ve hoşgörü ile destek olan değerli hocam Sayın Yrd.Doç.Dr.Gülşah AŞIK'a, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç.Dr. Recep KEŞLİ'ye, yetişmemde büyük katkıları olan hocalarım Sayın Prof.Dr. Zafer ÇETİNKAYA'ya, Sayın Doç.Dr. Orhan Cem AKTEPE'ye, Sayın Doç.Dr. Özlem MİMAN'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasının her aşamasında bana zaman ayırıp desteğini ve yardımını esirgemeyen, tecrübe ve bilgisiyle kendisinden büyük yardım aldığım Sayın Arş.Grv.Dr. Özlem YOLDAŞ'a, çalışmanın şekillenmesinde emeği geçen Sayın Uz.Dr.İmran SAĞLIK'a, tez çalışmalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof.Dr.Sefa ÇELİK'e, üniversite hayatım boyunca desteğini ve dostluğunu esirgemeyen Bio. Aslı BULUT'a ve yüksek lisansım boyunca beraber çalıştığım değerli meslektaşlarıma teşekkürler ederim.

Eğitim hayatım boyunca göstermiş oldukları sonsuz sabır, güven ve vermiş oldukları maddi ve manevi destek için sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bio.H. Merve BAŞER
AFYONKARAHİSAR 2014

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL ve RESİM LİSTESİ	iv
KISALTMALAR	v
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Hepatit C Virüsü	5
2.2. Hepatit C Genomu.....	6
2.3. Hepatit C Virüsü Replikasyonu	9
2.4. Genotip ve Subtipler	11
2.5. Hepatit C Enfeksiyonu Epidemiyoloji	13
2.6. Hepatit C Enfeksiyonu BulaşYolları.....	17
2.6.1. Parenteral Bulaş	18
2.6.2. Non-Parenteral Bulaş	24
2.7. Hepatit C Enfeksiyonunda Koruma ve Kontrol	28
2.8. Hepatit C Enfeksiyonunun Patogenezi.....	30
2.9. Hepatit C Enfeksiyonunun Doğal Seyri ve Kliniği	31
2.10. Hepatit C Enfeksiyonunda Tanı.	37
2.11. Hepatit C Enfeksiyonunda Tedavi	46
3.MATERYAL – METOT	51
4. BULGULAR	57
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	73
7. ÖZET	76
8. SUMMARY	77
9. KAYNAKLAR	78

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. HCV genomunun kodladığı proteinler ve fonksiyonları.....	9
Tablo 2.2. HCV enfeksiyonunun doğal seyri	33
Tablo 2.3. Kronik Hepatit C enfeksiyonunda hastalığın ilerlemesine etki eden faktörler	35
Tablo 2.4. Anti HCV testi araştırılması gereken gruplar.....	40
Tablo 2.5. Ticari Olarak Satılan Real Time HCV RNA Hedef Amplifikasyon Analizleri ve Miktarları.....	45
Tablo 2.6. HCV enfeksiyonu Anti HCV ve HCV RNA test sonuçlarına göre yorumlanması.....	46
Tablo 3.1. Hasta takip formu	52
Tablo 4.1. Hastaların demografik verileri	58
Tablo 4.2. Hastalarda belirlenen Hepatit C Virüsü olası bulaş yolları.....	59
Tablo 4.3. Pozitif hepatit göstergeleri	60
Tablo 4.4. Çalışılan testlerin karşılaştırılması	60
Tablo 4.5. Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları	61
Tablo 4.6. Anti-HCV,Serumda HCV RNA ve PKMNH’de HCV RNA pozitif olan hastaların yaş, cinsiyet ve hemodiyaliz süreleri.....	63
Tablo 4.7. Anti HCV, Serumda HCV RNA ve PKMNH’de HCV RNA pozitif bulunan hastaların değerleri ve ALT’leri.....	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Hepatit C Virüsü	5
Şekil 2.2. Hepatit C virüsünün genom organizasyonu, virüsün RNA'sı ve kodladığı proteinler	8
Şekil 2.3. HCV Replikasyon Basamakları	11
Şekil 2.4. HCV genotiplerinin dünyadaki coğrafik dağılımı	13
Şekil 2.5. 2007 yılı DSO verilerine göre dünyadaki ülkelerin HCV prevelans haritası.....	17
Şekil 4.1. HCV olası bulaş yolları	57
Şekil 4.2. Son 6 ayda yapılan cerrahi girişimlerin dağılımı.....	58

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. EDTA'lı tüplere alınan kanlar	53
Resim 3.2. A)Periferik kandan elde edilen mononükleer hücrelerin oluşturduğu bulutumsu görüntü B)PBS ile yıkama sonrası mononükleer hücrelerin oluşturduğu pelet	54

KISALTMALAR

ABD :	Amerika BirleŖik Devletleri
ACH :	Akut C hepatiti
ALT :	Alanin aminotransferaz
DMSO :	Dimetilsülfoksit
DOPPS :	“The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study”
DSÖ :	Dünya Sağlık Örgütü
EIA :	“Enzyme immünoassay”
FCS :	“Fetal calf” serum
HBV :	Hepatit B virüsü
HCV :	Hepatit C virüsü
HIV:	“Human Immunodeficiency Virus”
HSK :	Hepatoselüler kanser
IFN :	İnterferon
IL28B :	İnterlökin 28B
İV :	İntravenöz
KCH :	Kronik C hepatiti
KVY :	Kalıcı virolojik yanıt
OCH :	Occult C hepatiti
ORF :	“Open reading frame”
PBS :	“Phosphate buffered saline”
Peg-IFN :	Pegile interferon
PKMNH :	Periferik kandaki mononükleer hücreler
PCR :	Polimeraz zincir reaksiyonu
RBV :	Ribavirin
RPMI :	“Roswell Park Memorial Institute”
UTR :	“Un-translated region”

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Hepatit C enfeksiyonu, 1989'da Hepatit C virüsünün (HCV) tanımlanmasından sonra önemi giderek iyi anlaşılan dünya çapında yaygın ve ciddi bir enfeksiyondur. HCV kronikleşerek hastaların %20-30'unda karaciğer fibrozu, siroz ve ciddi karaciğer yetmezliği, hastaların %2-5'inde hepatoselüler karsinomaya yol açması ve yeni bir karaciğer gerektirmesinin yanısıra, hastalığın sinsi seyretmesi, klinik belirti vermemesi ve enfekte kişilerin toplumda bir rezervuar oluşturması da onu farklı ve önemli kılmaktadır. HCV enfeksiyonu dünya genelinde yaklaşık 170-210 milyon insanı etkilemektedir. HCV en sık hemodiyaliz hastalarında görülmektedir. Ülkemiz genelinde 2010 yılı sonunda hemodiyaliz, periton diyalizi, transplantasyon yapılan hastaların hepatit serolojileri değendirilmiş olup anti-HCV pozitiflikleri hemodiyaliz hastalarında %8.5, böbrek transplantasyon hastalarında %8.4, periton diyalizi hastalarında %4.5, olarak bildirilmiştir (Ellethy ve Sliem, 2012; Tosun, 2013).

Hepatit C virüsü önceleri posttransfüzyon hepatitlerinin başlıca sorumlusu olan ve enfekte ettiği kişilerde neredeyse yaşam beklentisini değiştirmeyen bir hastalık gibi algılanıyordu. Fakat zaman içerisinde, vakaların %85'inin kronikleştiği, karaciğer sirozundan olan ölümlerin ve nakil nedenlerinin başında geldiği sonradan yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu nedenle HCV en sık görülen karaciğer hastalıklarının başında gelir ve önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. HCV'nin sağlıklı popülasyonda yapılan kohort çalışmalarında anti HCV prevalansı %1.2-2.6 arasında değişirken, kan donörlerinde %0.05-1.5, sağlık çalışanlarında %0.2-1, hemodiyaliz hastalarında %6.8-51.6 gibi rakamlar bildirilmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi HCV'nin en sık görüldüğü hasta popülasyonu hemodiyaliz hastalarıdır ve yaygınlığının %5-54 arasında değiştiği bildirilmektedir (Massard ve ark, 2006). HCV sıklığı sosyoekonomik durum, eğitim

düzeyi, bulunulan şehir ve araştırmayı yapan merkezin hasta popülasyonuna göre değişiklik gösterdiği belirtilmiştir (Turunç ve ark., 2003; Tahan ve ark., 2007).

Ülkeler arasında anti-HCV sıklığı son yıllarda farklılık göstermektedir ve Japonya'da %30-50, Kuzey Avrupa ülkelerinde bu oran %2'den daha azdır. Diyaliz hastalarında HCV sıklığının diğer hastalara oranla daha fazla görülmesindeki nedenler diyaliz süresi, diyaliz tipi, diyaliz ünitesindeki HCV enfeksiyonunun fazlalığı ve kan transfüzyonları olabilir. En çok bulaş hemodiyaliz ünitelerindeki enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Gelişmiş ülkelerde intravenöz ilaç kullanımı en önemli bulaş yoludur. Hastane ve dış tedavi ünitelerinde kullanılan alet ve ekipmanların yetersiz temizlik ve dezenfeksiyonu da önemli bir risk faktörüdür (Barut ve Günal, 2009; Yıldırım ve ark., 2005). Perinatal ve cinsel yolla bulaş ise daha nadir olarak görülür (Caruntu ve Benea, 2006).

Hepatit C virusüne bağlı enfeksiyonlar akut, kronik ve occult enfeksiyonlar şeklinde seyreder. Akut C hepatiti (ACH) enfeksiyonu çoğunlukla asemptomatik seyreder ve %85 kronikleşmektedir (Thomas ve Ray, 2010). Kronik enfeksiyona neden olan HCV'li hastaların %15-20'si tam olarak iyileşme göstermektedir. Kronik C hepatiti (KCH)'nin ilerlemesi genellikle sessiz olduğu için hastalar çoğunlukla rutin biyokimyasal inceleme ya da kan transfüzyonu öncesi tesadüfen tespit edilmektedir (Akıncı ve Bodur, 2007). KCH'nin en önemli sonuçları hepatik fibrozisdir; bunun sonucunda siroz ve hepatoselüler kanser (HSK) gelişebilir (Thomas ve ark., 2005).

Occult C Hepatitinin (OCH) en bilinen tanımı; serumda anti HCV ve HCV RNA negatifken karaciğer hücrelerinde HCV RNA varlığının saptanmasıdır (Castillo ve ark., Esaki ve ark., Pham ve ark., 2004; Comar ve ark., 2006). OCH'inde, hepatositler ve lenfositler içinde düşük düzeyde viral replikasyon devam

edebilmektedir (Zaghloul, 2010). OCH sessiz seyreder, bu nedenle genel popülasyondaki OCH sıklığı bilinmemektedir.

Fabrizi ve arkadaşları Occult C hepatitini hastaların serumlarından yapılan karaciğer fonksiyon testlerinde nedeni bilinmeyen bozukluğun olduğu, anti HCV ve HCV RNA negatifken, karaciğer hücrelerinde ve periferik kan mononükleer hücrelerde (PKMNH) HCV RNA'nın tespit edilmesi olarak tanımlamıştır (Fabrizi ve Martin, 2008). Karaciğer biyopsisi OCH teşhisinde altın standarttır fakat bir çok hastada uygulanabilmesine rağmen tanıda tek başına yeterli değildir. HCV'nin lenfotropik özelliğinden dolayı PKMNH'de HCV RNA saptanmasının duyarlılığı araştırılmıştır (Lerat ve Hollinger, 2004; Castillo ve ark., 2005; Carreno, 2006; Bartolome ve ark., 2007). Castillo ve ark'larının (2004) yaptıkları çalışmada OCH'lı hastalarda PKMNH'de viral RNA %70'den fazla oranla tespit edilmiştir. OCH olan hastalarda PKMNH'de HCV RNA tespiti tanı koymada yardımcı olmaktadır fakat viral RNA'nın karaciğerde tayini altın standart bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Carreno ve ark., 2004; Barril, 2008; De Marco ve ark., 2009; Zaghloul, 2010).

Yapılan çalışmalarla OCH'nin KCH'den daha az karaciğer hasarına neden olduğu gösterilmesine rağmen siroz ve HSK gelişmesinde de rol oynayabilmektedir (Esaki ve ark., 2004; Comar ve ark., 2006; Carreno, 2006; Carreno, 2008). Hemodiyaliz hastalarında OCH, anormal karaciğer fonksiyon testlerine sahip hastalarda bulunduğu gibi normal karaciğer fonksiyon testlerine sahip hastalarda da OCH'nin olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Carreno, 2006; De Marco ve ark., 2009; Idrees ve ark., 2011).

Occult C Hepatiti, KCH'den daha ılımlı bir hastalığa neden olsa da histolojik olarak siroz dahil karaciğer hasarlanmasına neden olmaktadır. KCH'de antiviral

tedavi ile HCV RNA klirensi sağlanır, karaciğer enzimleri normale döner ve histolojik olarak tedavi edilen hastaların yaklaşık %50'sinde düzelme görülmektedir (Castillo, 2004; Pardo ve ark., 2007). OCH olan hastaların tanımlanması tedavi açısından da önem taşımaktadır. unku OCH duşuk seviyelerde olsa bile karaciğerde viral replikasyonun devam etmesi ile karaciğer hasarının surduğu ve onkojenik transformasyonun olduğu anlamına gelebilir (Pham, 2010).

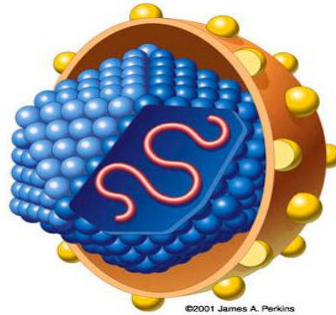
Hemodiyaliz popülasyonunda HCV enfeksiyonu önemli morbidite ve mortalite nedenleridir. Bu mücadelenin ilk basamağını da insidans ve prevalansın oldukça yuksekk olduğu bilinen hemodiyaliz unitelerindeki seronegatif hastalara bulaşmanın önlenmesi oluşturmaktadır. Occult HCV olguları nozokomiyal bulaşın önlenmesinde sorunlara yol açmaktadır. Bu çalışmada diyaliz hastalarında, OCH varlığının Periferik Kan Mononükleer Hucelerde (PKMNH'de) viral RNA'da saptanması yöntemi ile OCH sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepatit C Virüsü

Hepatit C Virüsü Hepacivirus genusunda flaviviridae ailesinde yer alır. Yaklaşık 50nm büyüklüğünde ve yaklaşık 9600 nükleotid içeren bir virüstür. Dış tarafında lipitten yapılmış ikozaedral simetrik bir zarf bulunur. Zarf 30-35nm çapında bir nükleokapsidi çevreler ve zarfı delen ince dikensi yapıları, 33nm'lik core proteinleri ve bunun sardığı tek zincirli pozitif polaritede RNA bulunduran virüstür (Nicot ve ark., 2011).

Hücre kültüründe üretilmeyişi ve serumda düşük titrelerde bulunmasından dolayı virionun özellikleri ayrıntılı olarak bilinmemektedir. Virüsün biyolojik özellikleri tam olarak tanımlanmayınca; virionun direnci, antivirallerin etkisi, epidemiyolojisi, tedavisi ve HCV aşısı ile ilgili temel çalışmalarda da çok sınırlı kalınmıştır. Virüsün enfeksiyözitesi +4 °C'de göreceli, -70°C'de kesinlikle stabildir. Enfekte plazmanın inaktivasyonu için 100°C'de 5 dakika, 82°C'de 72 saat ısıtılma, pastörizasyon, eter, kloroform, formalin veya solvent/deterjan ile muamele gibi yöntemler gerekmektedir (Bozkurt, 2011; Aygen, 2006)(Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Hepatit C Virüsü (<http://hepatitc.blogspot.com/>)

2.2. Hepatit C Genomu

Hepatit C virüs genomu, yaklaşık 9600 nükleotid içeren pozitif polariteli, tek zincirli RNA'dır. HCV genomunun her iki ucunda 5' ve 3' uçlarda iki adet translasyona uğramayan bölge (untranslated region: UTR) bulunmaktadır. Bu iki uç arasında 9000'den fazla nükleotidden oluşan bir 'open reading frame' (ORF) bulunmaktadır (Durmaz, 2005). ORF yaklaşık 3010 aminoasit uzunluğunda büyük bir poliprotein kodlamaktadır (Türkoğlu, 2003).

5' UTR:

Genomun 5' ucunda bulunan 341 nükleotidlik UTR bölgesi, suşlar arasında yüksek oranda korunmuş nükleotid dizisine sahiptir (Durmaz, 2005). Bu özellik, HCV viremisinin saptanması ve kantifikasyonu çalışmalarının hedef bölgesi olması sonucunu doğurmuştur (Türkoğlu, 2003). 5' UTR, ORF'nin başlama kodonunun hemen proksimalinde, ribozomlara doğrudan bağlanmaya olanak tanıyan bir 'Internal Ribosomal Entry Site (IRES) bulunmaktadır. HCV IRES'inin yeri 344-354. nükleotidler olarak tanımlanmıştır (Wilke Topçu ve ark., 2002). 5' UTR bölgesi, virüs replikasyonu ve viral proteinlerin translasyonunda önemli rol oynamaktadır (Durmaz, 2005; Keyvani ve ark., 2012).

Hepatit C virüsü tek bir polipeptid kodlar ve hepatit C'yi kodlayan genler şu şekilde sıralanabilir: 5'-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-3'. HCV'nin yapısal proteinleri; core proteini, iki tane zarf proteini (E1 ve E2) ve p7 virioporindir. İlk kodlanan HCV gen türü proteini kor proteindir ve N ucundan yapısal bölgenin ilk ürünüdür. Kor proteini viral nükleokapsidi oluşturan RNA bağlanma proteindir (Karataylı ve Bozdayı, 2010). Zarf proteini olan E1 ve E2 glikolizlenmiş proteinler olup gp35 ve gp70'i kodlamaktadır. Virüs partikülünün lipid kılıfı içine gömülüdürler ve konak hücreye bağlanma, giriş ve konak hücre

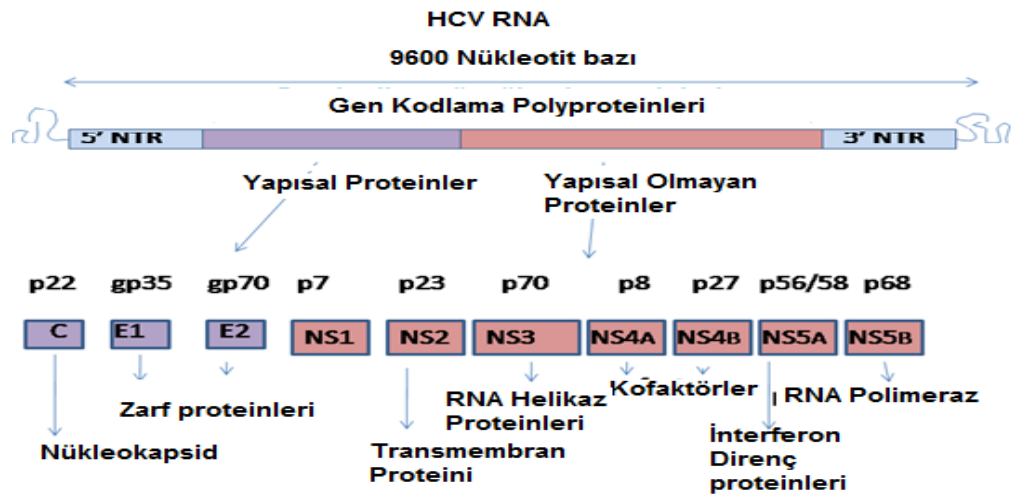
membranı ile birleşmede gereklimektedirler (Wilke Topçu ve ark., 2002; Keyvani ve ark., 2012).

Yapısal ve yapısal olmayan proteinler arasında yer alan p7 enfeksiyöz HCV parçacıklarının hücre içinde üretimi için gerekli bir proteindir. RNA replikasyonu için gerekli değildir (Sakai ve ark., 2003). Birincil olarak p7, endoplazmik retikuluma integral membran proteini olarak yerleşmiştir. Ayrıca p7 virioporin rolüyle viral parçacık olgunlaşması ve salınımı için görev yapabilmektedir (Griffin ve ark., 2003; McGarvey ve Houghton, 2005).

Yapısal proteinlerden sonra yapısal olmayan (nonstructural, NS) proteinler sentezlenir. Bunlardan NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B ‘viral RNA replikaz kompleksi’ adı verilen enzim kompleksidir ve replikasyonda rol almaktadırlar. HCV’nün NS poliproteininin proteolizi komplekstir ve iki farklı proteinazı NS2 ve NS3’dür. Bunlar NS2 ve NS3 için çinko bağımlı metalloproteinaz ve NS3’ün N-terminal bölgesinde sınırlı NS3 serin proteinaz ve helikaz aktivitesi de yapmaktadır. NS3’ün ileri bölgesinde kalan yapısal olmayan tüm proteinlerin kesimi, bu proteinin N ucu bölgesinde bulunan kemotripsin benzeri viral serin proteaz aktivitesini NS4A kofaktör ile gerçekleştirmektedir. Aktif proteaz NS3 ve NS4’ü içeren bir heterodimerdir (Karataylı ve Bozdayı, 2010). Yüksek derecede hidrofobik özelliklere sahip NS4B, HCV replikasyon kompleksi için gerekli olan membranımsı ağ oluşumunu uyarmada görev almaktadır (Egger ve ark., 2002; Keyvani ve ark., 2012).

Yapısal proteinlerden NS5A bir fosfoprotein olup, fosforlanmasının HCV’nin hayat döngüsünde önemli bir role sahip olduğu düşünülmüştür. NS5A’nın kısa bir bölümündeki dizi polimorfizminin interferon tedavisine yanıt ile arasında korelasyon olduğu tanımlanmıştır ve bu interferon duyarlılığı belirleme bölgesinin

(Interferon Sensitivity Determining Regio:ISDR) interferona direnci belirlediği ve bunun genotiplerle bağlantılı olduğu bazı çalışmalarda saptanmıştır. NS5B ürünü ise (p68-p70) RNA'ya bağımlı RNA polimeraz işlevi görmektedir ve bu in vitro transkripsiyon deneyleri ile kanıtlanmıştır (Xu, 2001; Thomas ve ark., 2005; Mc Mullan ve ark., 2007; Karataylı ve Bozdayı, 2010, Keyvani ve ark., 2012) (Şekil 2.2) (Tablo 2.1) (Lauer ve Walker, 2001; Aygen, 2006).



Şekil 2.2. Hepatit C virüsünün genom organizasyonu, virüsün RNA'sı ve kodladığı proteinler.
(http://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C_virus)

3' UTR:

Bu bölge 27-54 nükleotidi kapsamaktadır ve poly-U ya da poly-A ile sonlanmaktadır. Poly-U' dan sonra 98 baz uzunluğunda 3'- X dizisi bulunur (Türkoğlu, 2003). Bu kısmın viral genomun replikasyon başlangıcı konusunda önemli rol aldığı düşünülmektedir (Durmaz, 2005). Deneysel hayvanı olarak şempezeliler HCV'nin replikasyonunu sürdürebildiği tek türdür (Türkoğlu, 2003).

Tablo 2.1. HCV Genomunun Kodladığı Proteinler ve Fonksiyonları

<u>Aminoasit</u>	<u>Protein</u>	<u>Fonksiyon</u>
1-191	C	Nükleokapsit
192-383	E1	Zarf Glikoprotein
384-746	E2	Zarf Glikoprotein
747-809	P7	Viriopirin
810-1026	NS2	NS2/3 oto-proteaz
1027-1657	NS3	Ser Proteaz, RNA Helikaz
1658-1711	NS4A	NS3 Ser Proteaz Kofaktör
1712-1972	NS4B	İntraselüler membran veziküler
1972-2420	NS5A	ISDR, Interferon direnci
2420-3010	NS5	RNA dependent RNA polimeraz

2.3. Hepatit C Virusü Replikasyonu

Hücre kültürü modellerinde in vitro HCV replikasyonunun sağlanması bilimsel çalışmalarda önemli bir basamak olmaktadır. HCV'nin in vitro replikasyonu ile ilgili bugün gelinen en son aşama RNA replikonlar ve cDNA/in vitro transkriptlerdir. Bu aşamaya gelene kadar hücreler hep, enfeksiyöz HCV partikülleri içeren serumlarla infekte edilmekte iken, replikon sistemlerde in vitro olarak cDNA'lardan elde edilen HCV RNA'larla, hücre dizileri transfekte edilmişlerdir. Bunun sonucu olarak, enfeksiyonu oluşturmada kullanılan başlangıç materyali çok ve homojen olarak elde edilmiştir.

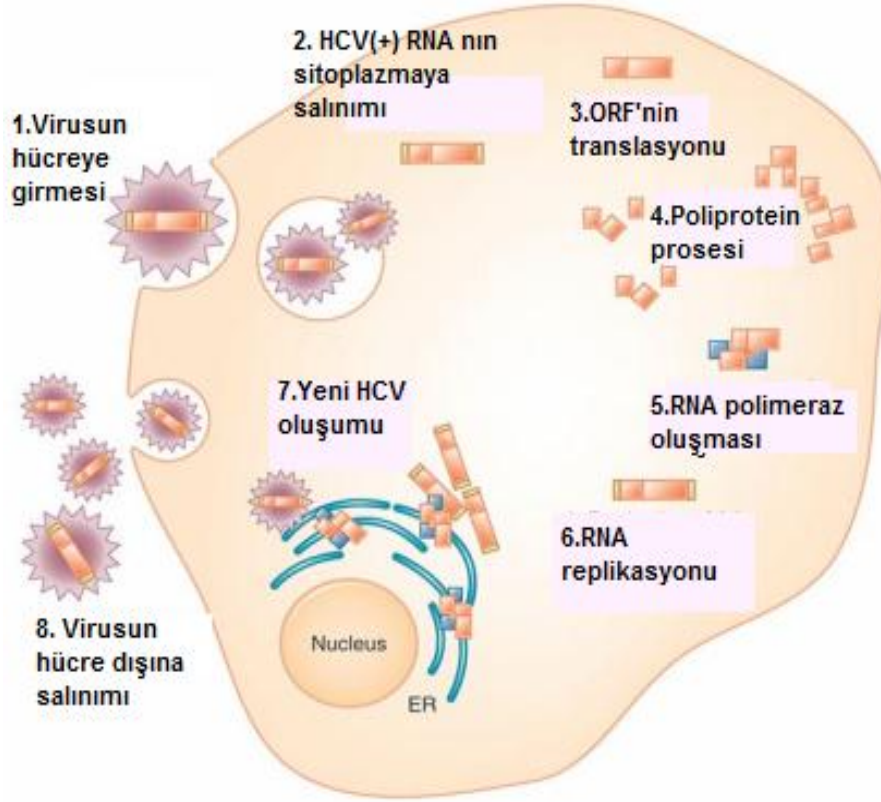
Hücre kültürü replikon sistemin geliştirilerek hepatit C virüsü ile ilgili temelde eksik bulunan tüm bilgilerimizin tamamlanması ile virusün aşısı ve

tedavisi ile ilgili pek çok yeni gelişmeye kapı açacaktır (Lindenbach and Rice, 2005; Nicot ve ark., 2011) (Şekil 2.3).

HCV Replikasyon Basamakları:

1. Virüsün bağlanması ve hücre içine girmesi,
2. Hepatit C Virüsü (+) RNA sitoplazmaya salınımı,
3. ORF translasyonu,
4. Poliprotein prosesi,
5. RNA polimeraz oluşması,
6. RNA replikasyonu,
7. Paketlenme ve yeni virus oluşumu,
8. Virion maturasyonu ve hücre dışına salınım olarak sayılabilir.

Bu basamaklardan her biri antiviral tedavi için bir hedef oluşturmaktadır (Wakita ve ark.,2005).



Şekil 2.3. HCV Replikasyon Basamakları (Lindenbach and Rice, 2005).

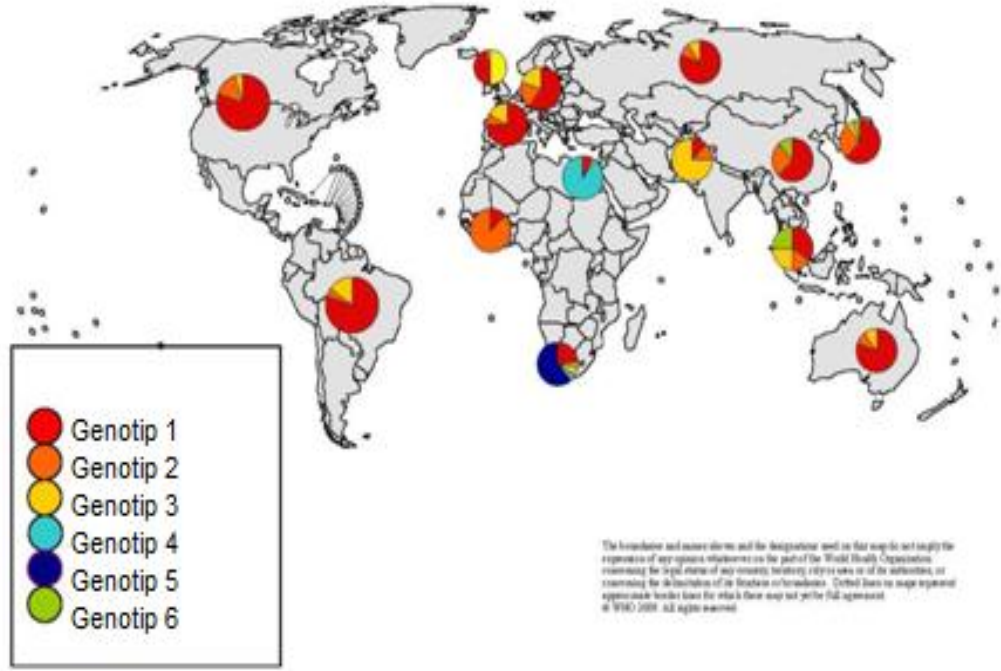
2.4. Genotip ve Subtipler

Tüm genom dizileri belirlenmiş HCV suşları incelendiğinde, virüsün genomu boyunca, hemen hemen tüm bölgeleri kapsayan, RNA ya da protein dizisi benzerlikleri göze çarpmış ve bunları grup ve alt gruplar halinde sınıflandırmak mümkün olmuştur. Bu sınıflandırma 'genotiplerin' ortaya çıkmasına yol açmıştır (Türkoğlu, 2003). Filogenetik yöntemlerle 2005 yılında HCV'nin 6 genotipi ve çok sayıda subtipi tanımlanmıştır. Genotipler nükleotid düzeyinde birbirinden %31-33 fark gösterirken, subtipler %20-25'lik bir fark göstermektedir (McGarvey ve Houghton, 2005; Simmonds ve ark., 2005; Türkoğlu, 2007).

Hepatit C virusünün 6 genotip ve çok sayıda alt tipi mevcuttur. Genotipler 1'den 6'ya kadar rakamlarla, alt tipler ise a, b, c... gibi küçük harflerle ifade edilmektedir. Genotip 1b'nin üç ana alt tipi (W: Worldwide, J: Japan ve NJ: Non-Japan) bulunmaktadır (Nakano ve ark., 2001). 1,2 ve 3 no'lu genotipler tüm dünyada yaygın bir şekilde görülmektedir (Şekil 2.4)(Simmonds ve ark., 2005; Nicot ve ark.,2011).

Genotip 1a Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da saptanırken, Japonya, Güney ve Doğu Avrupa'da genotip 1b en fazla görülmektedir. Genotip 2 bütün dünyada genotip 1'e göre daha nadir görülür ve özellikle asemptomatik enfeksiyonlarda sık olarak saptanmaktadır. Genotip 3 çoğunlukla Hindistan, Pakistan, Avustralya ve özellikle İskoçya'da kan donörlerinde, Güneydoğu Asya ülkelerinde ve genç hastalarda saptanmaktadır. Genotip 4 Ortadoğu, Mısır ve Orta Afrika'da, genotip 5 Güney Afrika'da, genotip 6 Hong Kong'da yaygın olan tiplerdir. Son zamanlarda Avrupa'da yapılan çalışmalarda genotip 2a, 2c ve gençlerde 1b azalırken, genotip 1a ve 3a'da artış bildirilmektedir. Ülkemizde de HCV genotiplerini belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmış ve baskın HCV genotipi 1b (%68-94) olarak bulunmuştur. Bu çalışmaların hepsi göz önüne alındığında; genotip 1b'nin yanında, %2-19 oranında 1a, %2-5 tip 2a, %1-4 tip 4 bulunduğu bildirilmiştir (Karatay ve Bozdayı, 2010; Altuğlu ve ark., 2008; Nicot ve ark., 2011; Keyvani ve ark., 2012).

HCV genotiplerinin Dünyadaki coğrafik dağılımı



Şekil 2.4. Dünyada HCV genotiplerinin coğrafik dağılımı (<http://hepcbc.ca/genotypes/>).

2.5. Hepatit C Enfeksiyonu Epidemiyoloji

Hepatit C virusü tüm dünyada yaygın olarak görülen bir enfeksiyon etkenidir. HCV ile enfekte dünya genelinde yaklaşık 170-210 milyon hasta olduğu tahmin edilmektedir. Akut enfeksiyon çoğu zaman asemptomatik olduğu için HCV enfeksiyonunun gerçek insidansını bilmeyi güçleştirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) dünya nüfusunun tahminen %3'ünün HCV ile enfekte olduğunu bildirmektedir. Gelişmiş ülkelerde anti-HCV sıklığı %1-2 arasında değişmektedir (Nolte, 2001). Avrupa ve Afrika'nın doğu bölgelerinde enfeksiyon sıklığı daha yüksektir. Özellikle Mısır'da genel popülasyondaki sıklık %15-40 gibi yüksek oran belirlenmiştir. Amerikan Hastalık Kontrol Merkezinin verilerine göre ABD'de 3.9 milyon kişide anti HCV pozitif olup, bunların 2.7 milyonu viremik olduğu

saptanmıştır. Yine ABD’de kronik hepatitlerin %40’ından HCV’nin sorumlu olduğu ve bu hastalıktan her yıl 8.000-10.000 kişinin öldüğü bildirilmektedir (Ustaçelebi ve Ergünay, 2004). Ülkemizde HCV enfeksiyonunun sıklığı %1-2.4 arasında değişmektedir. Bu oranlar farklı popülasyonlarda %0.05-51.6 arasında olduğu bilinmektedir. Tüm çalışmalar dikkate alındığında anti HCV prevalansı ülkemizde %1.35’dir ve dünya ortalamasının altında yer almaktadır. Ülkemizde HCV enfeksiyonunun en yüksek görüldüğü hasta grubu hemodiyaliz hastalarıdır (Türkoğlu, 2007; Alter, 2007; Mıstık, 2007, Barut ve Günal, 2009; CDA, 2012).

Hepatit C virüsü prevalansı Kuzey Avrupa’da tahmini olarak %1’den düşük, prevalansın yüksek olduğu ülkeler Asya ve Afrika yer almaktadır. En düşük prevalans İngiltere ve İskandinav ülkelerinden (%1’in altında), en yüksek prevalans ise Mısır’dan (%15-20) bildirilmektedir (Alter, 2007). Nüfusu büyük fakat düşük prevalansı olan gelişmiş ülkelere Almanya’da prevalans %0.6, Kanada’da %0.8, Fransa’da %1.1, Avustralya’da %1.1 olarak gösterilmektedir (Şekil 2.5). Dünya haritasında ülkemiz prevalansı %1-2.4 arasında olan ülkeler arasında yer almaktadır. Gelişmekte olan ülkeler arasında prevalans oranları yönünden önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Örneğin Çin’de prevalans %3.2, Hindistan’da %0.9, Mısır’da ise prevalans yaklaşık %15-20 olarak bildirilmektedir (Shepard ve ark., 2005).

Ülkemizde 2000-2006 yılları arasında farklı merkezlerdeki donör taramalarından elde edilen anti HCV pozitiflik oranı ortalama %0.54 olduğu görülmektedir. Ülkemizde 2000 yılından sonra erişkinlerde yapılmış çalışmalara bakıldığında toplam 16 160 kişideki anti HCV pozitifliği %1.15 oranında saptanmaktadır. Erişkinlerdeki bu prevalans oranlarının yüksek olduğu iller Afyon’da %1.03-1.75 arasında, Erzurum’da %1.2, İzmir’de %1.3 ve Tokat’ta %2.1 olduğu görülmektedir (Mıstık, 2007; Yildirim ve ark., 2009).

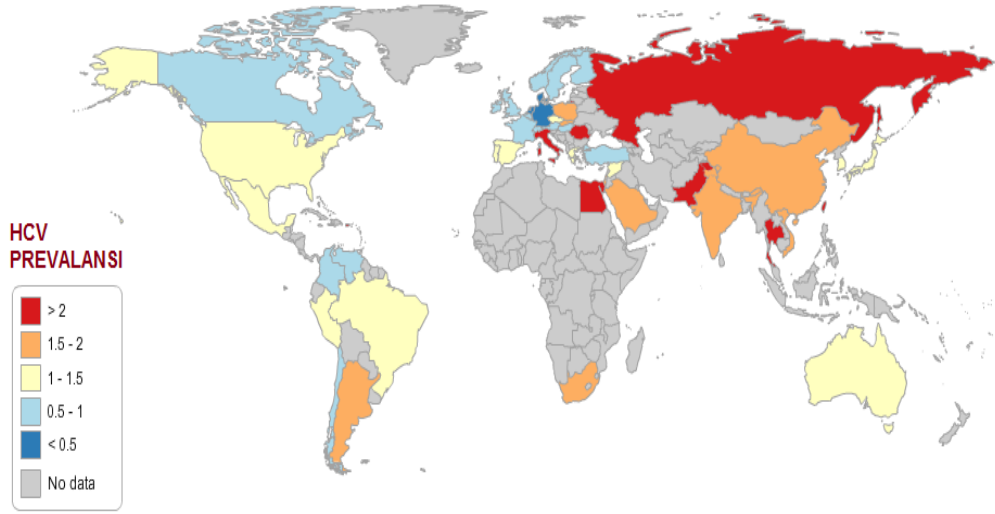
Hepatit C virus enfeksiyonunu alanların yaklaşık %70'inde (%50-85 arası) kronik hastalık (RNA pozitif) gelişmektedir. İnfeksiyonu alanların yaklaşık %25'inde sarılıkla seyreden akut hepatit tablosu gelişebilmektedir. İnfeksiyonu 40 yaşın altında alanların %5'ten daha az kısmında 20 sene içinde siroz gelişirken, 40 yaşın üzerinde infekte olanlarda 20 sene içinde siroz gelişme olasılığı ise %20 oranında olduğu bilinmektedir. Sonuçta kronik HCV hepatiti olan hastaların %25'inde siroz oluşmakta ve bunların da önemli bir kısmında hepatosellüler karsinom (HSK) geliştirmektedir (Lavanchy, 2009). Dünyada sirozun %27'si, HSK'nın ise %25'i HCV ile ilişkili olduğu görülmektedir (Alter, 2007).

Ülkemizde kronik hepatitlerin etiyolojisinde HCV'nin rolü son yıllarda giderek artmaktadır. Ökten (Ökten, 2003)'in yaptığı çalışmaya göre hepatit B virusu (HBV) enfeksiyonunun etyolojide hala önemini korumasına karşılık son 10 yılda HCV'nin katkısı %23'ten %38.1'e yükseldiği görülmektedir. Benzer şekilde sirozların etyolojisinde HBV %56.6'dan %45.9'a inerken, HCV'nin katkısı %25.2'den %45.9'a yükseldiği görülmektedir. Kuşkusuz burada HCV tanı testlerinin geliştirilmesinin öneminin büyük olduğu anlaşılmaktadır (Tozun, 2008).

Ülkemizde yaşa özgü prevalansın incelendiği çalışmalarda özellikle 50 yaşından sonra prevalansın arttığı izlenmektedir (Kurt ve ark., 2003; Mıstık, 2007). Karaca ve ark. (2006)'ı İstanbul'da Kronik hepatit C hastalarının değerlendirildiği çalışmada hastaların en çok 50-59 yaş grubunda yığılma gösterdikleri ayrıca kronik hepatit, siroz, HSK gibi komplikasyonların da en sık bu yaş grubunda görüldüğü bildirilmektedir. Karadeniz Bölgesi'nde Tokat ilinden bir çalışmada anti-HCV pozitif olanların yaklaşık üçte ikisinin 50 yaş üzerinde olduğu görülmektedir (Barut, 2008). Yıldırım ve ark. (2009)'nın Karadeniz Bölgesi'nde ve bütün Tokat ilini temsil edecek geniş bir örneklem üzerinde yaptıkları bir çalışmada 12 şehir merkezinden ve 58 kırsal yerleşim yerinden 1095 sağlıklı kişi anti HCV pozitifliği yönünden incelenmiş, çalışmada genel prevalans %2.1 bulunmuş, yaşa özgü

prevalansın 40'lı yaşlardan sonra artmaya başladığı, 50-59 yaş grubunda %4.2, 60-69 yaş grubunda %3.4 ve 70-79 yaş grubunda ise %7.1 ile en yüksek değere çıktığı gözlenmektedir.

Ülkemizde 2008-2012 yılları arasında Türk Kızılayı Kan Merkezi'nin verileri 4 510 207 sivil donörde anti HCV pozitifliğinin %0.02-%0.004 arasında olduğu saptanmaktadır. 2010 yılı sonunda ülkemiz genelinde hemodiyaliz, periton diyalizi, transplantasyon yapılan hastalarda hepatit serolojisi ile ilgili yapılan değerlendirmede anti HCV pozitiflikleri hemodiyaliz hastalarında %8.5, böbrek transplantasyon hastalarında %8.4, periton diyalizi hastalarında %4.5 olarak bildirilmektedir. Viral Hepatitle Savaşım Derneği'nin(VHSD) 2008 yılındaki saha çalışmasında anti HCV pozitiflik 41 006 kişide %0.5; 2009 yılında 46 471 kişide %0.4; 2010 yılında 40 954 kişide % 0.4; 2011 yılında da 21 785 kişide %0.7 olarak bildirilmektedir. VHSD Otobüs Projesi'nde toplam 36 554 kişide anti HCV pozitifliği %0.9 olarak gözlenmektedir (Tosun, 2013).



Şekil 2.5. 2012 yılı Hastalık Analiz Merkezi (Center for Disease Analysis, CDA) verilerine göre dünya HCV prevalansı haritası (<http://www.centerforda.com/HepC/HepMap.html>).

2.6. Hepatit C Enfeksiyonunun Bulaş Yolları

Hepatit C virüsü birçok vücut sıvısında tespit edilmiş olmakla beraber en yüksek düzeylerde kanda bulunmaktadır. Virüs, sadece insan ve şempanzeler de enfeksiyona neden olmaktadır. Deney hayvandan tek model şempanzeler olması nedeniyle, oldukça az sayıda deneysel veri mevcuttur.

Hepatit C virus enfeksiyonu için başlıca risk faktörleri intravenöz uyuşturucu ilaç kullanımı, diyaliz, enfekte bir anneden doğan çocuk ve 1990'dan önce kan transfüzyonudur. Diğer risk faktörleri ise özellikle HCV ile enfekte biriyle cinsel temas gibi yüksek riskli cinsel davranış, kokain ve marihuana gibi uyuşturucu kullanımı bulunmaktadır. ABD'de ve Avrupa'da HCV ile enfekte hastaların çoğunluğu damar içi uyuşturucu kullanımı veya kan transfüzyonu ile olmaktadır. HCV RNA semende veya tükürükte tespit edilebilmesine rağmen, bu vücut sıvılarının enfeksiyöz partiküller taşıyıp taşımadıkları bilinmemektedir. Eğer bu sıvılar enfeksiyöz partikül taşıyorlarsa ve mukozal hücreler de bu sıvılarla tipik olarak temas halinde ise bu şekilde enfekte olabileceğini düşündürmektedir. HCV'nin bulaşması başlıca parenteral yolla olmakta ve olguların yarısından bu yolun sorumlu olduğu bildirilmektedir (Wilke Topçu ve ark., 2002). Çevrenin enfeksiyöz virus için rezervuar olabileceği düşünülmektedir. Çoklu doz ilaç flakonları, infüzyon setleri, İV uyuşturucu malzemelerinin çapraz kontaminasyonu, iğne ve şiringaların tekrar kullanımı sonucu, belirsiz perkütan temaslar yoluyla HCV bulaşının olabileceğini unutulmamalıdır. Çevresel kaynaklardan bulaşmayı destekleyen deneysel bir çalışmada, kuruyup oda ısısında bir süre bekleyen kanda HCV infektivitesinin devam ettiğini göstermektedir. Mısır'da yapılan kohort çalışmasında ailede anti HCV pozitif birisi olmasının yeni HCV enfeksiyonu gelişmesinde en güçlü prediktör olduğu bildirilmektedir (Barut ve Günal, 2009).

2.6.1. Parantral Bulaş

A) Meslekle İlgili Bulaşma:

Hepatit C virüsü, sağlık çalışanlarının enfekte hastalardan kan almaları sırasında iğne batmaları sonucunda %3-8 oranında bulaşmaktadır. Mesleki bulaşma daha çok kontamine iğnenin sağlık çalışanına batması sonucu olmaktadır ve serokonversiyon insidansı yaklaşık %1.8'dir. İğne çapının artması ve yaranın derinliği ile orantılı olarak bulaşma ihtimalini artırmaktadır. İnfekte kanın mukozaya ya da bütünlüğü bozulmuş deriye teması sonrası enfeksiyon gelişimi nadir görülmektedir. Kanın sağlam deriye temasıyla bulaşma söz konusu olmamaktadır. Birçok gelişmekte olan ülkede steril şırınga temininde sorunlar olabilmekte, uygulama sağlık kurumları dışında profesyonel olmayan kişilerce yapılabilmekte ve ayrıca bu ülkelerde ağızdan verilebilecek ilaçlar çoğunlukla injeksiyon yoluyla verilmektedir.

Mısır'da 1960-1987 yılları arasında ulusal şistozomiyaz tedavi kampanyası kapsamında cam şırıngaların tekrar kullanımı sonucunda çok büyük bir HCV epidemisi yaşanmıştır. Güvenli olmayan injeksiyona ek olarak hastanelerde ve dış tedavi ünitelerinde kullanılan alet ve ekipmanların yetersiz temizlik ve dezenfeksiyonu da HCV bulaşmasında önemli risk faktörü olmaktadır. Ülkemizde steril injektör temininde sorun bulunmamaktadır. Buna rağmen steril tek kullanımlık injektörlerin kullanıma girmesinden önceki yıllarda bu şekilde güvenli olmayan injeksiyonla bulaşmalar olabilmektedir. Ancak geçmişte yoğun yaşanan ve halen devam eden bir sorun olan tıbbi işlemler sırasında sterilizasyon ve dezenfeksiyona dikkat edilmemesi, HCV geçişinin ülkemizdeki en sık nedeni olmaktadır. HCV enfekte sağlık çalışanından hastaya bulaş ise çok nadir olmaktadır (Barut ve Günel, 2009).

Ayrıca konjonktivaya kan sıçraması ile de bulaş olabilmektedir. Kan donörlerine kıyasla sağlık çalışanları daha yüksek anti-HCV prevalansına sahip olmaktadır. ABD’de sağlık çalışanlarının genelinde bildirilen oran %1.4 iken, cerrahlar arasında %0.9, diyaliz ünitesinde çalışanlarda %2, ilaç bağımlılarının tedavi edildikleri kliniklerde çalışanlarda %10 olarak saptanmaktadır. HCV enfeksiyonunda diş hekimleri özel bir risk taşımaktadırlar. Diş hekimleri arasında anti HCV prevalansı, ABD’de %2 iken, İtalya’da %6 olarak bildirilmektedir. Diş hekimleri arasında seropozitiflik oranı hastalar arasında intravenöz ilaç bağımlılarının sayısı, oral cerrahinin uygulanması ve meslek süresi ile paralellik göstermektedir. HCV seropozitif diş hekimleri, seronegatif diş hekimlerine kıyasla daha fazla AIDS’li hasta, homoseksüel hasta, intravenöz ilaç bağımlısı hasta ve hemofilik hasta tedavi ettiklerini bildirmektedirler. Ülkemizde sağlık çalışanlarında anti HCV prevalansı ortalama %0.7 olarak bildirilmektedir (Bozkurt, 2011).

B. Kan ve Kan Ürünleri Transfüzyonu:

Hepatit C virüsü pozitif (HCV RNA pozitif) kan transfüzyonunda enfeksiyon genellikle oluşmaktadır. Donörlerin anti HCV bakımından rutin testlere tabi tutulması ile posttransfüzyon HCV enfeksiyonlarında önemli azalmaların olmasını sağlamaktadır. HCV ile kontamine kan ve kan ürünü alanların %90’ından fazlasında HCV enfeksiyonu gelişmektedir. Kan ve organ donörlerinde 1990’lı yılların başlarından itibaren (ülkemizde 1996 yılı) kan bankalarında rutin donör taramada anti HCV testinin yapılması ve donör temininde gönüllü verici uygulamasına geçilmesi ile HCV’nin kan transfüzyonuyla bulaşmasını önemli derecede azalttığı görülmektedir.

Hepatit C virüs kontaminasyonundan sonra ortalama 60-80 gün içerisinde HCV’ye karşı antikolar oluşmaktadır. Antikor belirleme testlerine rağmen

transfüzyon ile HCV bulaşması gerçekleşebilmektedir. HCV, kontamine immunglobulin ve pıhtılaşma faktörleri gibi kan ürünlerinin intravenöz uygulamaları ile de bulaşma olduğu gösterilmektedir. HCV'nin tarama yapılan kan örnekleriyle geçiş riski günümüzde 1/100.000'dir. Bu düşük orandaki bulaşın da nedeni muhtemelen donörde anti HCV antikörleri oluşmadan kan alınmasıdır. Günümüzde uygulanan immunglobulin dekontaminasyon prosedürleri ve rekombinant pıhtılaşma faktörlerinin kullanılmaya başlanması bu ürünlerle oluşan bulaşma riskini azaltmaktadır (David ve Thomas, 2001).

C. Nozokomiyal Bulaş:

Nozokomiyal bulaşma hepatit C virüsünün hastane ortamında bulaşması olarak tanımlanmaktadır. Buna hastane dışında yapılan medikal ve cerrahi girişimler sonucu gelişen bulaşma da eklenebilir. Nozokomiyal bulaş yetersiz dezenfeksiyon ve kontamine aletlerin kullanımı sonucu olmaktadır. Transfüzyon hikayesi veya HCV ile bilinen diğer parenteral bulaş olmayan hastaların önemli bir kısmından nozokomiyal bulaş sorumlu olabilmektedir.

Nozokomiyal bulaşmaya en iyi örnek hemodiyaliz uygulanan hastalarda HCV enfeksiyonudur. Nozokomiyal HCV bulaşması, genellikle enfeksiyon kontrol uygulamalarında ki aksaklıklardan kaynaklanmaktadır. HCV, enfekte hastalardan sağlık çalışanlarına iğne batmaları sonucunda %3-8 oranında bulaşmaktadır (Karaca ve ark., 2006).

D. Hemodiyaliz:

Son yıllarda hemodiyaliz hastalarındaki anti HCV sıklığı azalmakla beraber bu oran % 4-70 arasında değişmektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde anti HCV oranı %2'in altında iken, Japonya'da %30-50 olduğu bildirilmektedir (Türkoğlu, 2007). Diyaliz hastalarında HCV bulaş riski; kan transfüzyon sıklığı, diyaliz süresi, diyaliz tipi ve diyaliz ünitesindeki HCV enfeksiyonunun prevalansı ile ilişkili olduğu gösterilmektedir. Hastaların izolasyonu, ayrı makine kullanımı ve diyalizle ilgili malzemelerin tekrar kullanımının yasaklanması bulaş riskini azaltmaktadır. Ancak genel önlemlere çok sıkı uyum, temizlik ve universal enfeksiyon kontrol önlemlerine dikkat ve diyaliz makinelerinin titiz sterilizasyonu tavsiye edilmektedir. Konvansiyonel temizlik ve sterilizasyonun virüsü inaktif etmede yeterli olduğu görülmektedir (Reimer ve ark., 2007).

E) Organ Transplantasyonu:

Organ naklinden önce donörde mutlaka anti-HCV araştırılmalıdır, çünkü anti-HCV pozitif olan donörden yapılan nakillerde bulaş riski çok artmaktadır. Tatuaj yani dövme yapılması ile HCV bulaşı olabilmektedir. Tayvan'da yapılan bir çalışmada tatuaj yaptıran başka risk faktörü olmayan genç ve sağlıklı 87 kişinin %12.6'sında anti HCV pozitif olduğu saptanmaktadır. 126 kişiden oluşan kontrol grubunda ise bu oran %2.4 olarak bildirilmektedir (Lauer, 2001). Uygun şekilde sterilize edilmeyen iğnelerle ve deneyimli olmayan kişiler tarafından yapıldığında akupunktur potansiyel bir risk faktörü olabilmektedir (Nolte, 2001).

İmmüsupresse organ alıcılarında antikor testleri HCV enfeksiyonunun prevalans ve bulaşını göstermede daha az değerli olmaktadır. Bu nedenle HCV antikoru kaybolan veya gelişmeyen bu tip hastalarda HCV RNA testi gerekmektedir. HCV pozitif donörden seronegatif alıcıya yapılan nakilde HCV enfeksiyonu ve karaciğer hastalığı riski yüksek olmaktadır. Bazı çalışmalarda HCV infekte donörden böbrek, karaciğer ve kalp nakli yapılan hastaların transplantasyondan sonra %90-100'ünde hastalık geliştiği bildirilmektedir.

F) İntravenöz Madde Bağımlılığı

Batı, Kuzey ve Güney Avrupa bölgesi ülkelerinde yeni kazanılan enfeksiyonların büyük kısmını oluşturmaktadır. ABD'de İntravenöz (İV) madde kullanıcıları yüksek HCV enfeksiyonu riskine sahip grubu oluşturmaktadır ve 1999-2002 yılları arasında Amerika genelini temsil eden büyük bir örnek grubunda yapılan çalışmaya göre İV uyuşturucu kullanımı hastaların yaklaşık yarısında geçişten sorumlu risk faktörü olarak görünmektedir (Brass ve ark., 2006). Beş yıl veya daha kısa süredir İV uyuşturucu kullananlarda HCV seroprevalansının %20-46 arasında olduğu yeni çalışmalarda bildirilmektedir. İV madde kullanıcıları, enfeksiyonu ortak kontamine iğne ve ekipman kullanımı yolu ile almaktadırlar (Barut ve Gündal, 2009).

Yapılan bir çalışmada İV madde bağımlılarında HCV enfeksiyonu seroprevalansı %64.7 olarak bildirilmektedir. Ülkemizdeki İV madde bağımlılarının sayısının batı ülkelerine göre belirgin olarak az olması, bu yolla bulaşın sık saptanmamasına neden olmaktadır. Sadece İV madde bağımlılarında değil, parenteral olmayan madde bağımlılarında da HCV enfeksiyonu insidansının fazla olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Türkoğlu, 2007).

2.6.2. Non-Parenteral Bulaş

A) Cinsel Yolla Bulaş:

Hepatit C virüsü kanın dışında vücut sekresyonlarında genelde tespit edilmemektedir. Ancak, yüksek sensitiv PCR teknikleri ile vücut sekresyonlarında seyrek olarak bildirilmektedir (Chopra, 2004). Kronik hepatit C'li hastalarda periferik kanda mononükleer hücrelerde HCV tespit edilmektedir. Tükrük lenfosit kapsamaktadır ve bu bakımdan tükürüğün virus içermesi doğal kabul edilmektedir. Vücut sekresyonlarında tespit edilen HCV RNA oldukça düşüktür. Bu sıvıların enfeksiyöz olup olmadıkları tartışmalı olmakla birlikte, genellikle tükürük HCV enfeksiyonu kaynağı olarak kabul edilmektedir. Kronik taşıyıcılarla intrafilyal temas, virusun önemli bir bulaşma yolunu oluşturmaktadır ve bu vakalarda tükürük enfeksiyon kaynağı olabilmektedir. Cinsel temas da önemli bir bulaşma yolu olup, genital ülser, hematuri veya menstrüel kanama varlığında enfeksiyon sıklığı artmaktadır. ABD gibi ülkelerde, 1970-80'li yıllarda akut enfeksiyon insidansının yüksek ve yetişkinlerin çoğu birden fazla cinsel partnere sahip olduğu, dolayısıyla bu dönemlerde seksüel aktiviteyle HCV yayılımı önemli oranda gerçekleşmiş olabileceği bildirilmektedir (Barut ve Günel, 2009).

Hepatit C virusünün cinsel yolla bulaşma riski %1-3 civarında oldukça düşüktür, ancak birden çok cinsel partneri olan kişilerde risk belirgin olarak daha yüksektir ve korunma önerilmektedir. Anti-HCV pozitifliği ile ilgili diğer risk faktörleri; seks partnerlerinin sayısının fazla olması, cinsel yolla bulaşan hastalık hikayesi ve kondom kullanımındaki eksiklik olarak bildirilmektedir (Hardikar,

2002). Tek eşli ve heteroseksüel olan 500 kişi 16 yıl takip edilerek bu kişilerden 20 (%4) partnerde anti HCV pozitif ve 12 (%2.4)'sinde ise viremi belirlendiği gösterilmektedir (Terrault ve ark., 2003; Türkoğlu, 2007; Mauss, 2009).

B) Aile İçi Bulaş:

Hepatit C'nin de HBV gibi aile içi bulaşı olabilmektedir. Prevalans, temasın süresi ve özellikle indeks hastada enfeksiyonun süresi ile yakından ilgili olduğu bildirilmektedir (Caliendo ve ark., 2006). Aile içi bulaşı ise enfeksiyöz kan veya vücut sıvılarının mukoza ile teması yahut diş fırçası, jilet, tırnak makası gibi kişisel hijyenle ilgili malzemelerin ortak kullanıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Seroprevalans temasın süresi ve özellikle ilk hastada enfeksiyonun süresi ile yakından ilgili bulunmaktadır.

Türkiye'de yapılan bir çalışmada yaşları 17-34 arasında olan HCV pozitif anne ya da babası olan 230 kişide hepatit prevalansı %2.17 olarak bildirilmektedir. Diğer risk faktörlerini taşıyan çocuklar dikkate alınmadığında prevalans %1.3'e düşmektedir ve bu durum Türkiye'deki genel HCV prevalansı ile uyumlu bulunmaktadır. Bu her ne kadar perinatal geçişi direkt gösteren bir çalışma olmasa da en azından HCV pozitif aile bireylerinin çocuklarında HCV prevalansının genel popülasyondan farklı olmadığına işaret etmektedir. Bu çalışma ayrıca aile içi geçişin HCV'de pek önemli bir etkisinin olmadığına işaret etmektedir (Aykin ve ark., 2008).

C) Perinatal Bulaş:

Hepatit C virusünü perinatal geçiş oranı %4-7 arasında olduğu saptanmaktadır ve bulaşma sadece doğum sırasında anne kanında HCV RNA pozitifse gerçekleşebileceği bildirilmektedir. İnsan immünyetmezlik virusu (HIV) ve HCV koenfeksiyonu olan annelerin çocuklarına HCV bulaşma riski 2-4 kat daha fazla olduğu görülmektedir; bunun nedeni annenin kanında HCV RNA düzeyinin yüksek olmasının perinatal geçişi artırabileceği şeklinde açıklanmaktadır (Alter, 2007; Lavanchy, 2009).

Annede HVC RNA negatifse risk sifıra yakın olmaktadır. Birçok çalışmada doğumun şeklinin HCV'nin perinatal bulaşını etkilemediği belirtilmektedir. Bu nedenle hepatit C varlığında sezeryan kesin endikasyon değildir denmektedir. Anne sütünde HCV gösterilmesine karşın hepatit C ile infekte kadınlardan doğan bebeklerde emzirme ile enfeksiyon riskinin arttığını gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (Khaja ve ark., 2006). Gebenin yüksek HCV RNA düzeylerinin de bulaşı artırabileceğini gösteren bilgiler yayınlar bulunmaktadır. Antikorların üç aya varan sürede bebekte bulunabileceğinden, izlem anti HCV ile değil HCV RNA ile olmalı, üçüncü ve altıncı aylarda HCV RNA mutlaka değerlendirilmelidir. Bebeğe bulaş söz konusu ise en erken iki yaşında tedavi verilebilmektedir (Barut ve Günal, 2009).

D) Diğer Bulaş Yolları:

Hepatit C infekte kan veya vücut sıvılarında saptanabileceği gibi; kozmetik işlemler (tatuaj, “piercing”), intranazal uyuşturucu kullanımı, sünnet, akupunktur veya dövme gibi dini veya kültürel uygulamalarla da bulaşabilmektedir. Fransa’dan bildirilen, kan transfüzyonu öyküsü ve İV ilaç alışkanlığı olmayan HCV seropozitif hastaların risk faktörleri yönünden değerlendirildiği bir vaka kontrol çalışmasında hastaneye yatma, düşük/küretaj, gastrointestinal endoskopi, hastane dışında yapılan tedavi uygulamaları (yara bakımı, intramüsküler veya intravenöz injeksiyon, akupunktur ve variköz ven skleroterapisi vb.), intranazal kokain kullanımı, temas sporları, estetik amaçlı tedaviler ve profesyonel manikür/pedikür, istatistiki olarak HCV riskini artıran faktörler olarak belirlenmektedir (Karmochkine ve ark., 2006). Ancak ABD’de akut hepatit C vakaları üzerinde gerçekleştirilen vaka kontrol çalışmalarında tatuaj, “piercing” ve akupunktur ile HCV arasında bir ilişki olmadığı söylenmektedir (Alter, 2002; Shepard ve ark., 2005).

Ülkemizden Yıldırım ve arkadaşları (2005)’nın çalışmasında risk faktörleri yanında sünnet, tatuaj, akupunktur, diş fırçası ve jiletin ortak kullanımı gibi risk faktörleri de araştırılmış, fakat kontrol grubundan daha yüksek bulunmadığı gösterilmektedir. Ancak bu konuda yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalarda farklı sonuçlar bulunabileceği de unutulmamalıdır.

2.7. Hepatit C Enfeksiyonunda Korunma ve Kontrol

Hepatit C virus enfeksiyonundan korunmada en önemli gelişme kan donörlerinin anti HCV için rutin taranmasıdır, böylece transfüzyona bağlı HCV enfeksiyon riskinde azalma olmaktadır. Nadiren donörün temasla serokonversiyon arasındaki pencere periyodunda olduğu dönemde alınan kan ile bulaşma olmaktadır. İV uyuşturucu bağımlılığı olanların iğnelerini paylaşmamaları ve disposable iğne kullanımları korunmada önemlidir. HCV'den korunmada özellikle sağlık personelinin HCV ve diğer kanla bulaşan hastalıklar konusunda eğitilmeli, bu hastalıkların bulaş ve korunma yollarının öğretilmelidir. Bulaş riskini azaltan el yıkamanın önemi, eldiven gibi koruyucu bariyerler kullanımı, iğne, bistüri ve diğer keskin aletlerin uygun kullanımı sağlanmalıdır (Ayyıldız ve ark., 2000).

Aşılama ile temas öncesi profilaksi ile HCV bulaşının önlenmesine ciddi gereksinim vardır. Dünyada yaklaşık 170-210 milyon kişi virüsü taşımakta ve bu kişiler çeşitli yollarla diğer insanlara hastalığı bulaştırmaktadırlar. Hastalığa yakalanan kişilerin büyük çoğunluğunun kronikleşmesi ve bunlara mevcut tedavilerin sınırlı etkinliği nedeniyle yeni vakaların önlenmesi açısından aşı büyük önem taşımaktadır. Diğer yandan etkili bir aşının kontamine kanla teması olan sağlık personeline, hemodiyaliz hastalarına, intravenöz ilaç alışkanlığı olanlara ve sık kan ürünü almak zorunda kalanlara ciddi yararı olacaktır. Ancak HCV için etkili bir aşı geliştirilmesinde çeşitli problemler vardır. Yüksek mutasyon yeteneği sayesinde virüs sürekli değişime uğramakta ve yüzey antijenlerini değiştirerek immün sistemden kaçmaktadır.

Hepatit C virus enfeksiyonundan korunmak için alınması gereken önlemler şunlardır:

- Hepatit C virus ile enfekte olanlar etkenin bulaş yolları ve hastalık hakkında bilgilendirilmelidir.
- Hepatit C virus ile enfekte kişiyle aynı evde kalanlar hastanın traş malzemeleri, diş fırçası gibi kanla kontamine olma riski olan kişisel malzemelerini kullanmama konusunda uyarılmalıdır.
- İV ilaç kullanma alışkanlığı olanlar ortak iğne ve enjektör paylaşımı gibi etkenin olası bulaş yolları ve korunma yöntemleri hakkında eğitilmelidir.
- Sağlık çalışanları bütün tıbbi girişimlerde evrensel enfeksiyon kontrol önlemlerini uygulamalıdır.
- Hepatit C virusün cinsel ilişki ile bulaşma oranı düşük olduğu için heteroseksüel tek eşlilerde kondom gibi bariyer önlemlerinin kullanılması gerekli değildir. Poligamik kişilerde ise bariyer önlemleri kullanılmalıdır.
- Hepatit C virus ile enfekte olan kadınlarda gebelik kontrendike değildir. Enfekte gebeden virusun bebeğe bulaşma oranı sezeryan veya vajinal yol gibi doğum şekli ile ilişkili bulunmamıştır. Bununla beraber virusun bebeğe bulaş oranını azaltmak için fetal skalp monitörizasyonuna ve membran rüptüründen sonra travayın uzamasına izin verilmemelidir. Enfekte annelerin bebeklerinde anti-HCV testi doğumdan 18 ay sonra bakılmalıdır. Daha erken dönemde tanı konulması isteniyorsa HCV RNA testi çalışılabilir. Emzirme ile bebeğe virus bulaşı gerçekleşmez.
- Kan, doku ve organ vericilerinde EIA ile anti-HCV taraması yapılmalıdır. HCV ile enfekte olanlar A ve B hepatitine karşı bağışık değillerse aşılanmaları önerilmelidir.
- Hepatit C virus ile temas sonrası ve kaynak olan kişide anti-HCV araştırılmalı, eğer kaynakta pozitiflik saptanırsa temaslı kişide ikinci ve

sekizinci haftalar arasında HCV RNA testi, üç ve altıncı aylarda anti-HCV ve ALT testlerine bakılmalıdır (Kew ve ark., 2004; Sy ve Jamal, 2006; Aygen ve Şentürk, 2007; VHSD Rehberi, 2011).

2.8. Hepatit C Enfeksiyonunun Patogenezi

Önemli mortalite ve morbiditeye neden olan HCV'nin patogenezinde humoral veya hücre sel bağışıklığın hangisinin daha önemli yer tuttuğu kesin değildir. HCV konağa girdikten sonra replikasyona devam etmekte ve kronik hastalıkta gözlenen düzeyleri kısa sürede yakalamaktadır (Rehermann, 2005). HCV'nin, E2 proteini ile hepatositler ve B lenfositler dahil bazı hücrelerin CD 81 moleküllerine bağlanarak hücreye girdiği düşünülmektedir. Enfekte konak hücreleri için HCV sitopatik değildir. İmmün sistem, ortaya çıkan karaciğer hasarında önemli bir role sahip olmaktadır.

Hepatit C virus ile enfekte olan konakta doğal ve edinilmiş immünite ortaya çıksa da virüsü yok edememektedir. HCV konağa girdikten sonra replikasyona devam etmekte ve kronik hastalıkta gözlenen düzeyleri kısa sürede yakalamaktadır. Doğal ve edinilmiş bağışıklık sistemindeki değişik aksaklıklar nedeniyle virüs kontrol altına alınamamakta ve kronik hepatit süreci gelişmektedir. Sitokin yapan CD4⁺ T ve CD8⁺ T hücreleri, muhtemelen hem virüs replikasyonunun baskılanmasında, hem de karaciğer hasarının oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Apoptozun HCV enfeksiyonunda arttığı ve bunun, histolojik aktivite indeksi ve karaciğeri infiltre etmiş CD8⁺ T hücre miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiği, fakat aminotransferaz düzeyleri, HCV yükü veya genotip ile korelasyon göstermediği bildirilmektedir. Bu, biyokimyasal aktivite ile karaciğerin histolojik hasarı arasında korelasyon olmayabileceğini de kısmen açıklamaktadır (Calabrese ve ark., 2000). Konağın sitokin üretme yeteneğinin genetik komponentleri

bulunmaktadır. Sitokin ve kemokin polimorfizmi ile HCV'den iyileşme arasında ilişki bulunmaktadır (Powell ve ark., 2000; Nicot ve ark., 2011).

Kronik C hepatitli hastalarının yarısından fazlasında hepatosteatoz gelişmektedir. HCV kor proteininin insülin direncine yol açarak karaciğer yağlanmasına neden olduğu tahmin edilmektedir. HCV'ye bağlı HSK'nın çoğunlukla siroz zemininde gelişmesine rağmen, birçok HCV proteininin de onkojenik olduğu bilinmektedir. Kor proteini transkripsiyonu ve protoonkogenleri aktive ederek, apoptozu inhibe ederek, büyüme faktörleri ve reseptörlerini stimüle ederek ve de tümör reseptör genine (p53) etki ile onkojenik potansiyelini göstermektedir (Tang ve Grise, 2009).

Akut C hepatiti geçiren hastaların çoğunda (%80) kronik inflamasyon gelişmektedir. Bu durum HCV'nin genetik değişkenliğinin olması ve hızlı mutasyona uğraması sonucunda bağışıklık sistemi tarafından tanınmasının zorlaşmasına bağlanmaktadır. Ayrıca konağın immünolojik özellikleri de buna yardımcı olabilmektedir.

2.9. Hepatit C Enfeksiyonunun Doğal Seyri ve Kliniği

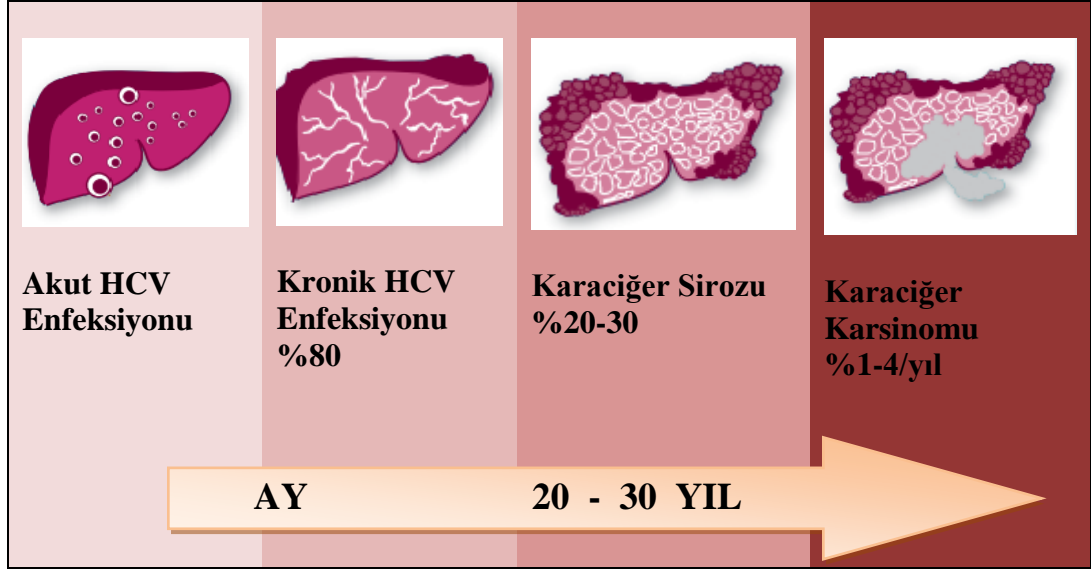
Hepatit C enfeksiyonu yavaş seyirli sinsi bir hastalıktır. Hastalığın doğal seyrini belirlemede bazı engeller bulunmaktadır. Bunlar; AHC'nin genellikle asemptomatik olması, hastaların çoğunda tanınmaması, bu nedenle hastalığın

başlangıcının net olarak belirlenememesi, HCV ve onun serolojik belirleyicilerinin keşfinin son 20 yıl içinde olması nedeniyle, çalışmaların çoğunun süre açısından yeterli uzunlukta olmaması, hastaların çoğunda tanı ve endikasyon konusunda hemen tedaviye başlanması gibi engelleri oluşturmaktadır (Dökmeci ve Sarıoğlu, 2001).

Hepatit C virus enfeksiyonunun doğal seyrini tam olarak bilmek zordur. Prospektif 20-50 yıllık takip gerektirmektedir. Ancak kısmen prospektif ve büyük oranda retrospektif araştırmalarla elde edilen sonuçlar; akut HCV enfeksiyonunun %80-85 asemptomatik (anikterik) geçirildiğini ve kronikleşme oranının da %80 civarında olduğunu göstermektedir (Alter ve Seef, 2000). Kronikleşen hastaların yaklaşık %20'sinde siroz gelişmekte ve sirotik evredeki Hepatit C'li hastalarda Hepatoselüler karsinom (HSK) insidansı %3 civarındadır (DiBisceglie, 2000) (Tablo 2.2).

Hastalığın derecesi ve hızını her birey için tahmin etmek zor olmaktadır. Cinsiyet, viral yük, karaciğerin demir içeriği, enfeksiyonun geçiş şekli ve süresi, alkol kullanımı gibi faktörler hastalığın doğal seyrini etkilemektedir (Mandell ve ark., 2000). Erkek cinsiyet, artmış viral yük, genotip 1b, karaciğerin demir içeriğinin yüksek olması, ciddi hastalıkla daha fazla oranda birliktelik göstermektedir (Dökmeci ve Sarıoğlu, 2001). Kan transfüzyonu yoluyla HCV bulaşanlarda siroz, madde bağımlılarına göre daha sık görülmektedir (Mandell ve ark., 2000). Birlikte alkol alımı veya karaciğer yağlanması da siroza giden faktör arasındadır (Şentürk ve ark., 2004). Kesin olmamakla birlikte alkol tüketiminin serum HCV-RNA düzeylerini yükselttiği, histolojik zarar ve fibrozisi artırdığı düşünülmektedir.

Tablo 2.2. HCV Enfeksiyonunun doğal seyri



Akut C Hepatiti (ACH) olgularının çoğu subklinik ve anikterik seyrettiği için akut dönemde tanı konması güç olmaktadır. İnkübasyon süresi 2-26 hafta arasındadır. Etken kan ve kan ürünleri transfüzyonu sonrası alındıysa virus miktarı yüksek olacağı için inkübasyon süresi daha kısa sürebilmektedir. Virus ile temastan sonra 1-4 hafta içinde önce HCV RNA pozitifleşmektedir. Dördüncü haftadan sonra alanin aminotransferaz (ALT) yükselmektedir. Enfeksiyonun ilk 8-12 haftasında viremi en üst seviyeye ulaşmaktadır. Anti HCV antikorları virus alındıktan 20-150 gün sonra pozitifleşmektedir (Akıncı ve ark., 2007). ACH çoğu kez asemptomatik olmakla birlikte halsizlik, iştahsızlık, kas ağrısı, bulantı, kusma, sağ üst kadranda ağrısı, idrar renginde koyulaşma, sarılık gibi semptomlar görülebilmektedir.

Serum aminotransferaz ve bilirubin düzeyleri fazla yükselme gözlenmemektedir. ALT'nin normale gelmesi viral klirens anlamına gelmemektedir. HCV tipik olarak kronik enfeksiyona neden olur, ancak hastaların %15-20'si tam olarak iyileşme gözlenmektedir. ACH'de fulminant hepatit gelişmesi çok nadir olmaktadır. Hastada kronik B hepatiti olması fulminant hepatit

gelişmesi için önemli bir risk faktörüdür. İlk yapılan çalışmalarda, transfüzyon ile ilişkili ACH'de spontan virolojik düzelme yaklaşık %15-25 oranında bildirilmektedir. Enfekte çocuklar, genç kadınlar ve toplumdan kazanılmış bir kısım hepatit C'li hastalarda yapılan çalışmalarda bu oranın yaklaşık %42-45 arasında olduğu gösterilmektedir. Bu bilgiler enfeksiyonun genç yaşta alınmasının spontan düzelme açısından önemli olduğunu göstermektedir (Akıncı ve ark., 2007; Leonard ve Seeff, 2005) (Tablo 2.3).

Kronik C Hepatiti; HCV ile enfekte kişilerin %55-85'inde enfeksiyon kronikleşmektedir. KCH'nin progresyonu sıklıkla sessiz olmaktadır. Hastalar genellikle rutin biyokimyasal inceleme ya da kan transfüzyonu öncesi tesadüfen tespit edilmektedirler. KCH'li hastalar devam eden hepatoselüler inflamasyon ile karakterize ilerleyici karaciğer hastalığı açısından risk altında olup, bu hastalarda fibrozis ve takiben siroz, en sonunda da HSK gelişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda kriptojenik sirozlularda anti-HCV %8-69 oranında, HSK'lı hastalarda ise %6-76 arasında pozitiflik belirlenmektedir (Akıncı ve ark., 2007; Leonard ve Seeff 2009). Prospektif çalışmalarda, KCH'nin ilerleyici bir seyre sahip olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmalarda son dönem karaciğer yetmezliğinden ölüm sık olmamakla beraber karaciğer yetmezliği ve HSK gelişmesi kesin olarak gösterilmektedir.

Tablo 2.3. Kronik hepatit C enfeksiyonunda hastalığın ilerlemesine etki eden faktörler (Seeff, 2005).

Akut enfeksiyonun kronikleşmesi	HCV'nin persistansı
<ul style="list-style-type: none">• Erkek cinsiyet• İmmüsupresyon• HCV alınma yaşı(>40 yaş)	<ul style="list-style-type: none">• Enfeksiyonun ortaya çıkma yaşı• Erkek cinsiyet• İmmüsupresyon• Siyah ırk• Aşırı alkol kullanımı• Şişmanlık, karaciğer yağlanması• Diabetes mellitus• HIV, HBV koenfeksiyonları• Karaciğerde demir birikimi• Şiştozomiyaz• Doğuştan immün yetmezlik

Occult C Hepatiti; son yıllarda etiyojisi aydınlatılamamış kronik karaciğer hastalığı olan hastalarda tanımlanmaktadır. Castillo ve ark. (2004) başta olmak üzere OCH için yapılan tanım; serumda anti-HCV ve HCV RNA negatifken karaciğer hücrelerinde HCV RNA'nın belirlenmesi şeklinde tanımlamaktadır (Castillove ark., 2004; Pham ve ark., 2004; Comar ve ark., 2006). Fabrizi ve ark. (2008) ise OCH'yi sebebi bilinmeyen anormal karaciğer fonksiyon testi olan hastaların serumunda anti-HCV ve HCV RNA negatifken, karaciğer hücrelerinde ve PKMNH'de HCV RNA'nın tespit edilmesi şeklinde tanımlamaktadır. PKMNH'de HCV RNA tespiti OCH olan hastalarda tanı koymada yardımcı olsa da viral RNA'nın karaciğerde tayini altın standarttır (Barril ve ark., 2008; De Marco ve ark., 2009; Zaghloul ve El-Sherbiny, 2010; Carreno ve ark., 2012).

Genel popülasyondaki Occult C hepatiti sıklığı bilinmemektedir. Özellikle kan transfüzyonu sırasında ve hemodiyaliz ünitelerindeki OCH bulaş riski HCV enfeksiyonunun yayılması için önemli bir risk oluşturmaktadır (Barril ve ark., 2008). Kan donörlerinde enfeksiyöz ajanlar için tarama prosedürlerinin gelişmesine

rağmen çeşitli viral, bakteriyel ve protozoal enfeksiyonlar için transfüzyonla bulaş riskleri devam etmektedir. Lökosit ilişkili enfeksiyonlar için lökodepleksiyon yaklaşımına rağmen enfeksiyon ajanının bulaş riskinin azaltılması özellikle bazı viruslar ve prionlar için hala tartışmalıdır (Sharma ve ark., 2000).

Dahası bu donörler PKMNH’de HCV riski taşıyorsa yeni tarama stratejilerinin geliştirilmesi gerektiği aşıkardır (Carreno, 2006). HCV RNA ve anti HCV hasta serumunda belirlenemezken karaciğer hücresinde virusun çoğalmaya nasıl devam ettiği sorgulanmaktadır (Pham ve Michalak, 2008). Muhtemeldir ki HCV RNA ve anti HCV negatifken gelişen bir mutasyon ile virusun translasyon kapasitesi, kapsül oluşma aşaması veya virionun kan dolaşımına salınma aşaması etkilenmektedir. Bu da viremi seviyesinin ve anti HCV antikorlarının düşük seviyelerde oluşmasına neden olmaktadır. Düşük düzeyde antikor ve RNA ise mevcut serolojik ve PCR yöntemlerinin duyarlılığından dolayı belirlenememektedir (Carreno, 2006). OCH’li hastalar tedaviden fayda görebilecekleri için pegile interferon (peg-IFN) ve ribavirin tedavisi için değerlendirilmelidir (Pardo ve ark., 2006; Baré, 2009; Carreno ve ark., 2012).

Hepatosellüler Karsinom (HSK), kronik hepatit C’nin geç bir komplikasyonudur ve genellikle sirozu olan hastalarda ortaya çıkmaktadır. Sirozlu hastaların yaklaşık %25’inde 5 yıl içerisinde son dönem karaciğer hastalığı (özefagus varisi, asit, hepatik ensefalopati) ve HSK gelişmektedir. Siroz oluştuktan sonra HSK ilerleme hızı yılda %1-4’dir. HSK riski yaşla birlikte anlamlı olarak artmaktadır. HCV enfeksiyonu ileri yaşta kazanılırsa HSK daha kısa sürede gelişmektedir (Ohishi ve ark., 2003).

2.10. Hepatit C Virus Enfeksiyonunda Tanı

Hepatit C tanısı vücutta virusun varlığının gösterilmesi ile tanı konulmaktadır. Bunun için en sık antikor gösterilmesine dayalı serolojik testler, viral RNA gösterilmesine dayanan nükleik asit testleri ve karaciğer biyopsisi kullanılmaktadır.

Biyokimyasal testler:

Hepatit C virüs enfeksiyonu tanısında biyokimyasal yöntemlerle karaciğer hasarının gösterilmesi önemlidir. Kronik enfeksiyonda ALT düzeylerinin dalgalanmalarla seyredebileceği unutulmamalıdır. Geçici biyokimyasal remisyon ile persistan ALT normalliğini ayırmak zor olmaktadır. Kronik hepatitli olguların yaklaşık %30'unda ALT düzeyi normal, %40'ında ise yükselme iki kattan az olmaktadır. Bilirubin ve albümin düzeyleri, protrombin zamanı gibi diğer biyokimyasal testler de tanıda kullanılabilir (Bacon, 2002; Puoti ve ark., 2002; Ghany ve ark., 2009; VHSD Rehberi, 2011).

Serolojik testler:

Hepatit C virüs enfeksiyonu tanısı için bugün kullanılan en pratik yöntem antikor aranmasıdır. Bu amaçla, bugüne dek dört kuşak ELISA testi kullanılmıştır. İlk kuşak testler (EIA-1), tek bir rekombinant HCV klonundan elde edilmiştir. NS3 geninin bir kısmı ile NS4 geni ürününün tamamını içermişlerdir. Duyarlılık ve özgüllükleri düşük olup, serokonversiyonu saptamada yetersiz (geç) kalmışlardır. İkinci kuşak ELISA testleri (EIA-2), kor ve NS3 bölgelerinden ek rekombinant proteinler içermektedirler (Etiz ve Türkoğlu, 2005). Üçüncü kuşak testlerde (EIA-3) NS5'ten bir rekombinant protein eklenmiştir. Üçüncü kuşak testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü ikinci kuşak testlerden daha yüksek olup %97-99'dur (Chevaliez ve Pawlotsky, 2006). Yeni kullanıma giren dördüncü kuşak testlerde (EIA-4) kor bölgesinden iki farklı epitop, NS3, NS4A, NS4B, NS5A gibi üçüncü kuşak

testlerde kullanılan proteinler daha da çeşitlendirilerek genotip 1a, 1b, 2 ve 3 virusların NS3 ve NS4 proteinleri de eklenerek duyarlılık üçüncü kuşak testlere göre % 10-20 arttırılmış bulunmaktadır. Ayrıca üçüncü ve dördüncü kuşak testler serokonversiyonu daha kısa sürede saptayabilmektedirler (Colin ve ark., 2001; Keyvanive ark., 2012).

Tarama testlerindeki bu gelişmeler ile kan donörlerinin taranması sonucu, transfüzyona bağlı HCV enfeksiyonu azalmaktadır. Virus alındıktan 4-10 hafta sonra antikorlar kanda tespit edilebilmektedir. İmmüsuprese kişilerde, HIV enfeksiyonu olanlarda, hemodiyaliz hastalarında kanda antikor saptanamayabilir. HCV'ye karşı oluşan IgM tipi antikorların saptanmasının, akut enfeksiyon göstergesi olarak değeri bulunmamaktadır. Akut dönemde IgM saptanamayabildiği gibi, geç dönemde ortaya çıkabilmekte, kaybolmakta ya da uzun süre boyunca, yani herhangi bir zamanda saptanabilmektedirler (Akıncı ve Bodur, 2007). Rutin olarak anti-HCV taranmasına gerek yoktur, tanımlanmış risk faktörü saptanan olgularda yapılmalıdır.

EIA ile anti-HCV testi yapılması önerilenler:

- 1996 yılından önce kan ve kan ürünü transfüzyonu yapılanlar
- Kan ve kan ürünlerini sürekli kullanan hastalar (hemofili gibi)
- Human immunodeficiency virus (HIV) ve HBV enfeksiyonu olanlar
- Hemodiyaliz hastaları
- Kan, organ veya doku vericileri
- Organ transplantasyonu yapılanlar
- Baska bir nedenle açıklanamayan transaminaz yüksekliği olanlar
- İntravenöz ilaç kullanma alışkanlığı olanlar
- HCV ile infekte anneden doğan bebekler (doğumdan 18 ay sonra)
- HCV pozitif kan ile perkütan veya mukozal teması olan sağlık çalışanları (Chevaliez ve Pawlotsky, 2006; VHSD Rehber, 2011)

Moleküler Testler:

Diğer bir tanı yöntemi moleküler tekniklerle HCV RNA'nın dolayısıyla vireminin tespit edilmesidir. HCV RNA tayini HCV enfeksiyonu tanısında en duyarlı yöntemdir ve altın standart olarak kabul edilmektedir (Dienstag ve Isselbacher, 2005). AHC'de aminotransferazların yükselmesi ve anti HCV pozitifleşmesinden önce serumda tespit edilebilmektedir. Kronik enfeksiyonu olan hastaların çoğunda viremi sürekli, bir kısmında aralıklı gelişmektedir (Wilke Topçu ve ark., 2002). Aminotransferazları normal asemptomatik taşıyıcıda HCV RNA pozitif bulunabilmektedir (Dienstag ve Isselbacher, 2005). HCV RNA tespitinde kalitatif ya da kantitatif testler kullanılmaktadır.

Kalitatif HCV RNA testleri klasik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), real-time (RT) PCR ya da 'Transcription-Mediated Amplification' (TMA) tekniğine dayanmaktadır (Keyvani, 2012). Standartizasyonu sağlamak amacıyla viral yükün internasyonal ünite (IU) olarak verilmesi önerilmektedir. Viral yük, karaciğerdeki inflamasyon ve fibrozisin şiddeti ile de bağlantılı bulunmamaktadır (Poynard ve ark., 2003). Klinikte HCV RNA, akut enfeksiyonda serokonversiyon öncesinde tanı koymada, antikor oluşturamayan kronik hepatitli hastaların, yenidoğan enfeksiyonlarının tanısında, antikor pozitif hastalarda vireminin araştırılmasında ve antiviral tedavinin izlenmesinde kullanılmaktadır (Etiz ve Türkoğlu, 2005; Ghany ve ark. 2009) (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. Anti-HCV testi araştırılması gereken gruplar (Strader ve ark., 2004).

- HCV ile infekte anneden doğan bebekler (doğumdan 18 ay sonra)
- HCV pozitif kan ile perkütan veya mukozal teması olan sağlık çalışanları
- Tarama testleri kullanıma girmeden önce kan ve kan ürünü transfüzyonu yapılanlar
- Kan ve kan ürünlerini sürekli kullanan hastalar (hemofili gibi)
- HIV veya HBV enfeksiyonu olanlar
- Hemodiyaliz hastaları
- Kan, organ veya doku vericileri
- Organ transplantasyonu yapılanlar
- Başka bir nedenle açıklanamayan transaminaz yüksekliği olanlar
- Damar içi ilaç kullanma alışkanlığı olanlar

Karaciğer Biyopsisi:

Karaciğer biyopsisi genellikle KCH'li hastaların ilk değerlendirmesinde önerilmektedir. Biyopsi karaciğer patolojilerinin diğer nedenlerinin dışlanması, nekroz ile inflamasyonun derecelendirilmesi ve fibrozisin evrelendirilmesi için gerekli olmaktadır. Fibrozis derecesinin belirlenmesi tedavi açısından önem taşımaktadır. Transaminaz düzeyleri dikkate alınmaksızın başlangıçta karaciğer biyopsisi yapılması tedaviye karar vermek için yol gösterici olmaktadır. Ayrıca biyopsi yağlanma derecesi, safra yollarında hasar olup olmadığı ve varsa demir birikimi gibi diğer hepatit etkenlerinin ekarte edilmesinde de fikir vermektedir. (Dienstag ve Isselbacher, 2005; Ghany ve ark., 2009).

Az ya da hiç fibrozisi olmayan ve sıklıkla tedavisiz izlenen hastaların karaciğer hasarının izleminde de karaciğer biyopsisi yer almaktadır. Böyle hastalarda 4-5 yılda bir biyopsi tekrarı uygun görülmektedir. Karaciğer biyopsisi

hastalığın şiddetinin belirlenmesinde altın standart olmasına rağmen kullanımında bazı sınırlamalar bulunmaktadır. En önemlileri biyopsi sırasında yeterli miktarda örnek alınamaması, karaciğerin farklı bölgelerinin farklı histolojik aktiviteye sahip olması yer almaktadır. Bu işlemin ağrı, kanama, hemobiliya, biliyer peritonit, organ yaralanmaları, arteriyovenöz fistül, enfeksiyon, biyopsi sonrası karsinoid kriz, biyopsi iğnesinin kırılması, pankreatit gibi komplikasyonları bulunmaktadır. Karaciğer biyopsisinde mortalite oranı %0,01, komplikasyon oranı ise %0,06-0,32 civarındadır (Mc Mullan ve ark., 2007). Bu nedenle karaciğerdeki fibrozis ve nekroinflamasyonu gösteren, biyopsiye alternatif invaziv olmayan yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır (Akhan, 2008; Ghany ve ark., 2009; Keyvani, 2012).

Occult C Hepatiti Tanısı :

Fabrizi ve ark. (2008) ise OCH'yi sebebi bilinmeyen anormal karaciğer fonksiyon testi olan hastaların serumunda anti-HCV ve HCV RNA negatifken, karaciğer hücrelerinde ve PKMNH'de HCV RNA'nın tespit edilmesi şeklinde tanımlamaktadır. HCV'nin lenfotropik özelliğinden dolayı PKMNH'de HCV RNA saptanmasının duyarlılığı araştırılmaktadır. HCV replikasyonunun ekstrahepatik alanda da gerçekleşmesi nedeniyle PKMNH'de HCV RNA izolasyonu yapılabilmektedir (Lerat ve Hollinger, 2004; Castillo ve ark., 2005; Carreno, 2006).

İmmün sistemin farklı hücreleri örneğin CD4 ve CD8 T hücreleri, B hücreleri ve monositler HCV ile enfekte olabilmektedir. Hem genomik hem de antigenomik HCV RNA zincirleri OCH hastalarının PKMNH'de belirlenebilmektedir (Castillo ve ark, 2005; Barut ve Günal, 2009). Bu anlamda yapılan ilk çalışmada karaciğerde HCV RNA tayini ile OCH tanısı konmuş hastaların PKMNH'de HCV RNA tespiti amaçlanmaktadır. OCH'li olgularda karaciğer biyopsisine alternatif olarak PKMNH'de HCV RNA tespit yöntemlerine rağmen önemli oranda bir hasta grubuna halen tanı konamamaktadır. Bu hastalarda HCV'nin karaciğerde ve

PKMNH'de replikasyonu dikkate alınırse dolaşımında viral partiküllerin olduğu varsayılabilir, ancak çok duyarlı PCR yöntemleri kullanılsa bile virus düşük konsantrasyonda olduğu için tespit edilememektedir (Pham ve Michalak, 2011; Keyvani, 2012).

Tanısal yaklaşımda belirli bir metod izlenmesinde fayda vardır. Eğer hasta karaciğer biyopsisi için uygunsa biyopsi yapılmalı ve karaciğer hücresinde HCV RNA test edilmelidir. Sonuç negatif bulunursa periferik kanda viral RNA testleri yapılmalıdır. Eğer hasta karaciğer biyopsisi için uygun değilse PKMNH'de ve ultrasantrifüj edilmiş serumda HCV RNA araştırılmalı, sonuçta testlerden en az biri pozitifse OCH tanısı konmalıdır. Her iki test de negatifse OCH tanısını dışlamak için 3-4 ayda bir, bir yıl süreyle testlerin tekrarı önerilmektedir (Carreno ve ark., 2008).

Occult HCV enfeksiyonu hastadan alınan serum örneğinde HCV RNA'nın belirlenmesinde nükleik asid amplifikasyon yöntemlerinden PCR kullanılmaktadır. Bu yöntem in vitro olarak DNA'nın hedef bölgesinin çoğaltılması ve çoğaltılan bölgenin jel elektroforezinde yürütülerek saptanması ile gerçekleşmektedir. Testin analitik duyarlılığının ≤ 3 IU/ml olması gerekmektedir fakat belirtilen düzeyler, rutinde kullanılan gerçek zamanlı PCR testlerinin ulaşabildiği duyarlılığının altındadır. Viral yükü saptama yöntemiyle immün sistemi düşük hastalarda, hastaların seyrinin takibinde ve tedavinin izlenmesinde yardımcı olmaktadır. (Sayiner ve ark., 2010; Chevaliez ve ark., 2012) (Tablo 2.5) (Tablo 2.6).

İki aşamalı amplifikasyon yöntemi olan PCR çeşitlerinden Nested PCR ile de çoklu kopya bulunduran rRNA dizileri hedeflenir. Yani klasik PCR'a farklı primer takımıyla ikinci defa amplifikasyon uygulamaktır. İlk amplifikasyondan elde edilen ürün ikinci PCR için kalıp olarak kullanılır ve böylece çok sayıda ampikon elde

edilir. Pozitif sonuç alma ihtimali böylece artmaktadır. Bu durumda OCH tanısının konulmasına yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (Sevindik ve Abacı, 2013).

İnsan genomunun keşfi ve GWAS (Genome Wide Association Studies) ile HCV tedavisinde IL28B gen polimorfizminin önemi son zamanlarda yapılan genom çalışmalarında gösterilmektedir. HCV genotip 1 ve 4' e sahip hastalarda IL28B gen bölgesi dikkate alınarak uygulanan viral tedaviye göre kronik C hepatiti olanların akut C hepatiti olanlara göre viral yanıtı cevabı arttığı görülmektedir. Genotip1 hastalarda IL28B geni tedavi öncesi virolojik yanıtın belirleyici olduğunu göstermektedir. Genotip 2-3 hastaların tedavilerinde IL28B geni diğer genotiplere göre daha az rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda görülüyor ki IL28B geni standart tedaviye ve direkt etkili antivirallere göre azalmış gibi görülmekte tedavi sonucuyla olumlu ilişki göstermektedir (Lange ve Zeuzem, 2011; Ersöz, 2012; Altındış ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmaya göre, kemokin Interferon-c indüklenebilir protein 10 (IP-10, CXCL10) karaciğer fibrozisi için umut vericidir ve HCV enfekte hastalarda tedavi sonucunun IL28B'den bağımsız olduğunu göstermektedir. Ruhwald ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptığı çalışmada, plazmada IP-10 miktarını filtre kağıdı üzerinde kuruttuktan sonra tespit edilebilmiştir fakat karaciğer fibrozisi için geçerli bir marker olarak kabul edebilmek adına bir çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. (Ruhwald, 2012)

Occult C hepatiti'nde düşük konsantrasyonlarda da olsa dolaşıma viral partiküllerin salınımına rağmen, bu hastalarda neden antikör gelişmediği bilinmemektedir. Bu konuda ileri sürülen teori OCH'nin mutant suşlarla olduğu ve bu suşlara karşı gelişen antikörlerin mevcut serolojik testlerle belirlenemediğidir.

Bu teoriyi araştırmak için yapılan bir çalışmada OCH olgularının virus genomlarının farklı bölgelerinden klon ve sekans analizi yapılarak sekans bölgelerinin 302 bazlık kor bölgesi, 402 bazlık NS3, 350 bazlık NS4 bölgesi, 275 bazlık NS5B bölgesi içerdiği bilinmektedir. Nükleotid sekans analizi ile tüm bu bölgeler incelenerek anti HCV tespitini engelleyecek bir mutasyon saptanılmadığı bildirilmektedir. Bu nedenle OCH’de anti-HCV belirlenememesinin nedeni büyük olasılıkla tanımlanamamış viral ve konak faktörlerine bağlı olduğunu düşündürmektedir (Carreno, 2008; Bozkurt ve ark., 2011).

Tablo 2.5. Ticari Olarak Satılan Real Time HCV RNA Hedef Amplifikasyon Analizleri ve Miktarları (Chevaliez ve ark., 2012)

Kit İsmi	Firma	Metot	Ekstraksiyon Cihazı	Amplifikasyon cihazı	Gerekli miktar	LLOD (IU/mL)	Kantifikasyon aralığı(UI/mL)
COBAS TaqManHCV Test, v2.0	Roche Molecular Pleasanton, CA	Real-time PCR	Manual with high pure system viral nucleic acid kit	COBAS TagMan	650	20 IU/mL	25 (1.4 log ₁₀)-3.0 X 10 ⁸ 3.9 X 10 ⁸ (8.5–8.6 log ₁₀) IU/mL
COBAS Ampliprep-COBAS TaqMan (CAP/CTM)	Roche Molecular Pleasanton, CA	Real-time PCR	COBAS Ampliprep	COBAS TagMan	650	15 IU/mL	15 (1.2 log ₁₀)-1.0 X 10 ⁸ (8.0 log ₁₀) IU/mL
RealTime HCV	Abbott Molecular, Des	Real-time PCR	m2000SP	m2000RT	200-500	12 IU/mL (for 500 µL) 30 IU/mL (for 200 µL)	12 (1.1 log ₁₀) 1.0 10 ⁸ (8.0 log ₁₀) IU/mL
Artus HCV QS-RGQ Assaya	Qiagen, Hilden, Germany	Real-time PCR	QIA Symphony RGQ	Rotor-Gene Q	1000	36.2 IU/mL	67.6 (1.8 log ₁₀) 17.7 10 ⁶ (7.2 log ₁₀) IU/mL
VERSANT HCV RNA 1.0 Assay(kPCR)	Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY	Real-time PCR	Sample preparation(SP) module	Amplification and Detection (AD) Module	500	15 IU/mL	15 (1.2 log ₁₀) 1.0 10 ⁸ (8.0 log ₁₀) IU/mL

Tablo 2.6. HCV Enfeksiyonunun Anti HCV ve HCV RNA Test Sonuçlarına Göre Yorumlanması (CDC, 2003).

Test Sonucu	Yorum	İşlem
Hepatit C virüsü antikoruna (Anti-HCV) aktif değil	HCV antikoruna yoktur.	Örnekte HCV antikoruna yoktur olarak sonuç verilir ya da başka bir test ile tekrarlanır. Eğer HCV bulaş şüphesi varsa HCV RNA testi yapılmalıdır. Hasta enfeksiyonun pencere döneminde olabilir.
Hepatit C virüsü antikoruna aktif	HCV enfeksiyonu var denilebilir.	HCV enfeksiyonunu geçiriliyor olabilir ya da örneğin alınması, transportu ve işlenmesi ile ilgili yanlış pozitif sonuç olabilir
Hepatit C virüsü antikoruna aktif HCV RNA pozitif	HCV enfeksiyonu var.	Doktor gözetiminde tedaviye başlanmalı
Hepatit C virüsü antikoruna aktif HCV RNA negatif	HCV enfeksiyonu yoktur.	İşlem tekrarlanır. Örnek tekrar istenir ve Anti HCV testi tekrarlanır. Sonuç pozitif olursa HCV RNA farklı bir firma çalışılır. Enfeksiyondan sonra plazmada viral RNA kaybolmasına rağmen anti HCV varlığı sürebilir.

2.11. Hepatit C Enfeksiyonunda Tedavi

Kronik hepatit C tedavisinde ana hedefler; kronik hepatitten siroza ilerlemeyi geciktirmek, karaciğer kanseri gelişme riskini azaltmak, karaciğer transplantasyonu gereksinimini azaltmak, ekstrahepatik belirtileri ve bulaşı engellemek ve sonuçta HCV enfeksiyonunun morbitite ve mortalitesini azaltmak bulunmaktadır. İlk kez

1990 yılında ‘interferon monoterapisi’ ile başlanılan tedavilerden sonra, 1998 yılında ‘interferon ve ribavirin kombine tedavisi’ yanıtı daha etkili bulunarak kombinasyon tedavisi uygulanmaktaydı ve 2000’li yıllarda da pegile IFN ve RBV kombinasyonu tedavi olarak kullanılmaya devam edilmektedir. Günümüzde, kabul görmüş tek tedavi seçeneği pegile interferon alfa- α 2a/2b (pegIFN) ve ribavirin kombinasyonu 24 ya da 48 hafta süre olacak şekilde kullanılmaktadır. (Demirtürk, 2011). PegIFN ve RBV ile yapılan üç büyük çalışmanın sonuçları son 10 yıldır uygulandığına ve oldukça başarılı olduğu bildirilmektedir. Böylece ortalama olarak genotip 1 hastalarda %50, genotip 2 veya 3 hastalarda ise %80 kalıcı viral cevap (KVC) sağlandığı görülmektedir (Manns ve ark., 2001; Fried ve ark., 2002; Hadziyannis ve ark., 2004; <http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2002.37117> PMID:12407572).

Henüz direk etkili antiviral ajanların (DAA) bulunmadığı ülkelerde kronik C hepatiti standart olarak PegIFN ve RBV kombinasyonu ile tedavi edilir ve uygulanacak tedavi başlangıçtaki virolojik (genotip, viral yük) ve klinik özellikler (yaş, cins, hastalığın derecesi, alkol kullanımı, obezite, insülin direnci/diabetes mellitus vb hususlar) ve tedavi sırasında meydana gelen viral kinetik ile ilgili verilere (hızlı viral cevap, erken viral cevap, yavaş viral cevap gibi) göre belirlenmektedir (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2011.02.023>) (VHD, 2011).

Amerika Birleşik Devletleri’nde 2011 yılının Mayıs ayında, Avrupa birliği ülkelerinde Temmuz’da ruhsatlanan DAA ilaçlar olan Boceprevir (Victrelis 200 mg tb 3x4 tb/gün) ve Telaprevir (ABD’de Invicex, Avrupa’da Incivo 375 mg tb 3x2 tb/gün) ile kronik C hepatiti genotip 1 hastaların standart tedavisi PegIFN, RBV ve bir DAA’dan (Boceprevir veya Telaprevir) ibaret üçlü tedavi şeklini verilmektedir (Ghany ve ark., 2011). Bu yeni ilaçlar henüz Türkiye’de bulunmamaktadır. Yakın zamanda ruhsatlanmaları ve kullanıma sunulmaları beklenmektedir.

Viral kinetik bilgileri giderek daha fazla önem kazanmakta ve belirli zaman dilimlerindeki HCV RNA sonuçları tedaviyi yönlendirmektedir. Bu yanıtı dayalı tedavi uygulaması tedaviye cevap veya cevapsızlığın daha erken belirlenmesini ve esnek bir tedavi şemasının oluşturulmasını sağlamaktadır. Tedavide amaç kalıcı viral cevap (KVC), siroz ve komplikasyonlarının (hepatoselüler karsinoma ve diğerleri) ve karaciğer nakli gereksiniminin önlenmesidir.

Direk etkili antiviral ajanların (DAA) bulunmayan ülkelerdeki standart tedavi algoritmasına göre Genotip1 hastaları 48 hafta, Genotip2 ve Genotip3 hastaları ise 24 hafta PegIFN ve RBV kombine tedavisi yapılmaktadır. Genotip dışında da tedaviye cevaba etkili bir çok farklı özelliklere sahip bütün bu hastaların aynı tedaviye maruz kalmaları doğru olmamaktadır. Nitekim büyük çalışmaların verilerinin retrospektif olarak yeniden analizi ve yeni çalışmalar daha kısa veya daha uzun tedavi gerektiren hasta gruplarının tanımlanmasına ve netice olarak tedaviye cevap oranlarının artırılmasına imkan sağlamaktadır (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2011.02.023>).

Genotip 1 hastaların en az yarısı hala tedaviye cevap vermemektedir. Soru standart tedaviye yanıtın nasıl artırılması gerektiğidir. Başlangıçta tedaviye dirençli hasta profili (genotip 1, erkek, >50 yaş, ciddi fibrozis/F3-4, alkolizm, uyumsuzluk, şişmanlık-hepatosteatoz) söz konusu ise veya standart tedaviye beklenen cevap alınmazsa, hastada kronik C hepatiti tedavisini olumsuz etkileyen ve giderilebilecek faktörler (Sabit faktörler; Genotip, Viral yük, Siroz, Cinsiyet, Yaş, Etnik yapı, IL28B genotipi, Değiştirilebilir etkenler; Tedaviye hasta uyumu, Yan etkilerle uygun mücadele, Alkol kullanımı, İlaç dozunun önemi ,Obesite/insülin direnci, Doktor uyumu) ile mücadele edilmeli ve ilaç tedavisine uyum azami seviyede tutulmalıdır.

Son yıllardaki en önemli gelişmelerden birisi de, hızlı viral cevap (HVC) alınan genotip 1 ve viral yükü düşük hastalarda 24 haftalık tedavinin, 48 hafta ile eşdeğer olduğunun gösterilmesidir. Böylece başlangıç viral yükü $\leq 600,000$ IU/l olan genotip 1 hastalarda 4.hafta sonunda HCV RNA kalitatif negatif ise tedavi 24 haftadır. Benzer şekilde genotip 2/3 hastalarda da HVC sağlananlarda 24 hafta yerine 12-16 hafta tedaviye yeterli olabilmektedir. Buna karşılık yavaş viral cevaplı hastalarda veya HVC sağlanamayanlarda ise tedavinin 72 haftaya uzatılmasının kalıcı cevap oranını arttıracığı belirtilmektedir. Genotip 1 ve düşük viral yüklü hastalarda 24 hafta tedavi Avrupa ülkelerinde standart algoritmada yer almaktadır.

Bireysel tıp uygulaması ve farmakogenetik yeni bir yaklaşım göstermektedir. İnsan genomunun keşfi ve GWAS (Genome Wide Association Studies) ile HCV tedavisinde IL28B gen polimorfizminin önemli olduğu gösterilmektedir. IL28B geninde rs12979860 lokasyonunda CC alleleline sahip olanlarda (C/T veya T/T olanlara kıyasla) akut HCV enfeksiyonunda spontan klirens daha sıktır, genotip 1 HCV ile kronik C hepatiti olanlarda da standart tedaviye yanıt daha yüksek bulunmaktadır. Genotip 2 ve 3 hastalarda daha küçük rol oynamaktadır. Özellikle Genotip1 hastalarda pegIFN ve RBV kombine tedavisine cevabın öngörülmesinde yararlıdır. IL28B genotipi tedavi kararını değiştirmemelidir (Ghany ve ark., 2011; Demirtürk,2011; Ersöz, 2012). Ancak IL28B CC profili hastalarda tedavi kararını kolaylaştırmaktadır. IL28B polimorfizmi genotip 1 hastalardaki cevapsızlığı, Afrikan Amerikalılardaki düşük KVC oranlarını (CC genotipi sıklığı düşük) ve Asya'lılardaki yüksek sıklıkta KVC sağlanmasını (CC genotipi oranı yüksek) açıklayan bir farmakogenetik belirleyicidir. Türkiye'de kronik C hepatiti hastalarında IL28B CC genotipi sıklığı %40 civarındadır. (Altındış ve ark., 2013)

Occult C hepatiti, KCH'den daha ılımlı bir hastalığa neden olsa da histolojik olarak karaciğerde siroz dahil hasarlanmaya neden olmaktadır (Castillo ve ark., 2004; Pardo ve ark., 2007). Bu nedenle OCH'li hastalar tedaviden fayda görebilir ve peg-IFN ve ribavirin tedavisi için değerlendirilmelidirler (Pardo ve ark., 2006).

OCH tanısı konan, genotip 1b ile enfekte 10 hastanın PKMNH’de HCV RNA tespit edilmiş ve 12 ay süreyle karaciğer enzimlerinde yükseklik olan bu hastalara 24 hafta süreyle standart doz peg-IFN ve ribavirin tedavisi verilerek tedavi sonunda sekiz (%80) hastanın ALT seviyeleri normale gelirken, aynı zamanda PKMNH’de de viral RNA negatif olduğu saptanmaktadır. Tedavi sonu takiplerde ise sadece üç hastanın tedaviye tam yanıt verdiği görülmektedir (Pardo ve ark., 2007; Carreno, 2012).

Kronik C Hepatit’inde olduğu gibi antiviral tedavi ile karaciğerde viral yük azalması ve histolojik iyileşme sağlandığı için, bu hasta grubunda tedavinin potansiyel olarak faydalı olduğu söylenmektedir (Castillo ve ark., 2004; Esaki ve ark., 2004; Radkowski ve ark., 2005). OCH ile ilgili verilerin sınırlı olması nedeniyle tedavi konusunun belirsizliği devam etmektedir.

3. MATERYAL METOT

Bu çalışmaya rutin olarak hemodiyalize giren 18 yaş üstü kronik böbrek yetmezliği olan 60 hasta dahil edilmiştir. Çalışmayla ilgili etik kurulu kararı Karar- 33 numarası ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından alınmıştır.

Çalışma süresince hastaların demografik bilgileri, olası bulaş yolları, diyalize giriş süreleri, haftalık diyalize giriş günleri, laboratuvar bilgileri, kaydedilmiştir. Hastaların ALT, HBsAg, anti-HBs, anti-HCV göstergeleri ile serum ve Periferik Kan Mononükleer Hücrelerde (PKMNH) bakılan HCV RNA sonuçları takip formlarına kaydedilmiştir (Tablo3.1). 60 hasta örneğinde; serumda HCV RNA, PKMNH'de HCV RNA'nın Real Time PCR ile araştırılması Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalında yapılmıştır.

Tablo 3.1. Hasta takip formu

Hasta Dosya no:			
Hastanın Adı Soyadı:			
Cinsiyet:	Yaş:	Meslek:	Yaşadığı yer:
Olası Bulaş Yolları:			
IV ilaç kullanımı:			
Kan Transfüzyonu:			
Diş Tedavisi:			
Dövme Yaptırma Öyküsü:			
Ailede Hepatit Öyküsü:			
Cerrahi Girişim Öyküsü:			
Alkol Kullanımı:			
Diğer Bulaş Yolları:			
Haftalık Hemodiyalize Giriş Günü:			
Hemodiyalize Giriş Süresi:			
Diyalize Giriş Süresi:			
Karaciğer Fonksiyon Testleri :	ALT:	AST:	
Hepatit Göstergeleri:	HbsAg:	AntiHBs:	Anti-HCV:
Serum'da HCV RNA:			
PKMNH'de HCV RNA:			

Çalışmaya alınan hastalardan 2 jelli biyokimya tüpüne 2 mL kan alınarak serolojik testler gerçekleştirilmiş ve biyokimyasal testler bilgisayar kayıtlarından temin edilmiştir (Resim 3.1).



Resim 3.1. EDTA'lı tüplere alınan kanlar

Serum ve Periferik kan mononükleer hücrelerinde PCR çalışma aşamaları:

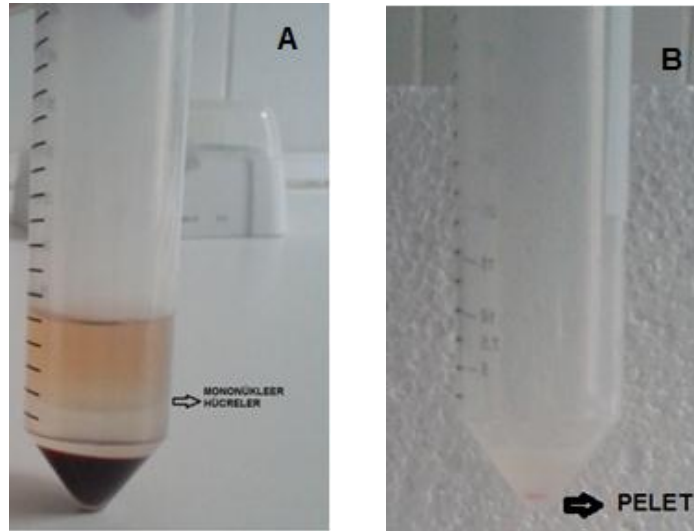
➤ Periferik kandaki mononükleer hücreleri ayrıştırma protokolü:

1. EDTA'lı tüpe 4mL kan alınmıştır. Nazikçe 2-3 kez alt-üst edilmiştir. 3-4 saat içinde işleme alınmıştır.
2. Tüpün içine bir pasteur pipeti ile 2 ml PBS eklenmiştir ve 1-2 kez nazikçe karıştırılmıştır.
3. 15 ml mavi kapaklı bir falkon tüpüne 4ml Ficoll koyulmuştur ve üzerine çok yavaş ve nazikçe kan-PBS karışımı eklenmiştir.
4. Karışım 1600 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası hücreler en altta eritrosit, ficoll, buffy coat ve en üstte plazma olacak şekilde ayrılmıştır (Resim 3.2.A).
5. Ayrılan buffy coat kısmı bir 15ml'lik falkon tüpüne 1mL kadarlık bir kısmı alınmıştır.

6. Alınan bu hücrelerin üzerine 8mL kadar (kanın 2-3 katı) PBS eklenerek nazikçe pipetaj yapılmıştır.
7. Pipetaj işleminden sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir ve falkon tüpünde hücre pelletinin üzerindeki kısım (dibe çöken hücreler korunarak) dikkatlice dökülmüştür (Resim 3.2.B).
8. Hücreleri saflaştırmak için gerçekleştirilen bu yıkama işlemi dört defa tekrarlanmıştır.
9. Stok solüsyon hazırlamak için;
10. 1 ml Stok solüsyonu ile dipte kalan hücre pelleti bir pipetle nazikçe al-ver yapılarak karıştırmıştır ve krio-viallere konarak -80C'de saklanmıştır.

Stok solüsyonu

1. 2ml Fetal Calf Serum (FCS)=Fetal bovin serum (FBS)
2. 7ml RPMI
3. 1ml DMSO



Resim 3.2. A)Periferik kandan elde edilen mononükleer hücrelerin oluşturduğu bulutumsu görüntü
B) PBS ile yıkama sonrası mononükleer hücrelerin oluşturduğu pelet

➤ Serum örneklerinden ve periferik kandaki mononükleer hücrelerden RNA izolasyon protokolü:

Buzdolabında muhafaza edilen COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Quantitative Test v2.0 (ROCHE,USA) kitin içeriği; Düşük Pozitif Kontrol, Yüksek Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol bulunmaktadır. Kit 2-8 °C'de saklanmıştır.

PCR testinin çözüm aralığı 15-1,7x10⁸ IU/mL, testin hassasiyeti 15 IU/mL'dir.

Çalışma prosedürü:

1. Tüm reaktif kasetleri 2-8 °C arasında saklanan buzdolabından çıkarılmıştır, hemen COBAS[®] AmpliPrep Cihazına yüklenmiştir ve ilk örnek işleme tabi tutulmadan önce oda sıcaklığına gelmesi için 30 dk cihazda bekletilmiştir.
2. HCV CS1 cihazın reaktif bölümüne konulan aparata , HCV CS2, HCV CS3 ve HCV CS4 ayrı reaktif bölümüne konulan aparata yerleştirilmiştir.
3. Reaktif kaset aparatları, Giriş S-tüpleri ile numune aparatları, SPU aparatları, K-ucu aparatları, K-tüpü aparatları ve K-taşıyıcısı aparatları cihazın ilgili bölümüne yüklenmiştir.
4. SPU'lar SPU bölümüne yerleştirilmiştir ve aparatlar cihazın J, K veya L bölümünden birine yüklenmiştir.
5. K-tüpü aparatı cihazın M, N, O veya P bölümünden birine yüklenmiştir.
6. Dolu K-ucu aparatları cihazın M, N, O veya P bölümünden birine yüklenmiştir.
7. K-taşıyıcısı cihazın M, N, O veya P bölümünden birine yüklenmiştir.
8. Cihaza numunelerin isim kaydı yapılmıştır.
9. Numuneler ve kontroller vortekslenip spin yapılmıştır.
10. Örneklerin konulduğu aparatın 1.pozisyonuna negatif kontrol, 2.Pozisyonuna düşük pozitif kontrol, 3.Pozisyonuna yüksek pozitif kontroller konulmuştur. 4.Pozisyonundan itibaren numuneler 1020 mL COBAS ependorflarına sıra ile konulmuştur. Cihaza yerleştirilmiştir ve cihaz çalıştırılmıştır.

11. Yaklaşık 2 saat sonra serumdan saf nükleik asitler elde edilmiştir.

- PCR Çalışması İçin Gerekli Malzemeler;
 - ❖ COBAS TaqMan HCV Quantitative Test v2.0 kit (ROCHE,USA)
 - ❖ COBAS TaqMan 48 cihazı
 - ❖ COBAS TaqMan K-tube
 - ❖ COBAS TaqMan K-carrier
 - ❖ Hasta örneklerinden izole edilen izolatlar

PCR çalışması için COBAS ® AmpliPrep cihazından çıkarılan K-carrier COBAS Taqman 48 cihaza yerleştirilmiştir ve test başlatıldıktan 3 saat sonra sonuçlar değerlendirilmiştir.

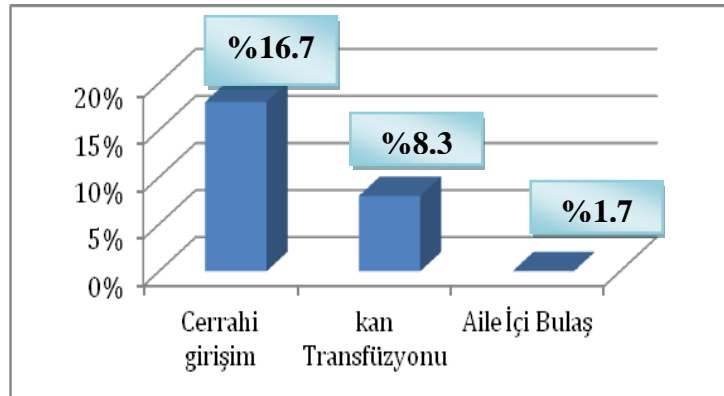
İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS paket programı kullanıldı. Ölçülebilen ve parametrik koşulu sağlayan veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma ($X \pm SS$) olarak verilmiştir. Ölçülebilen ve parametrik koşulu sağlamayan verilerde dağılım, ortalama olarak tanımlandı. Olguların tümü değişkenlerle karşılaştırılmasında Ki kare testleri analizi yapılarak sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

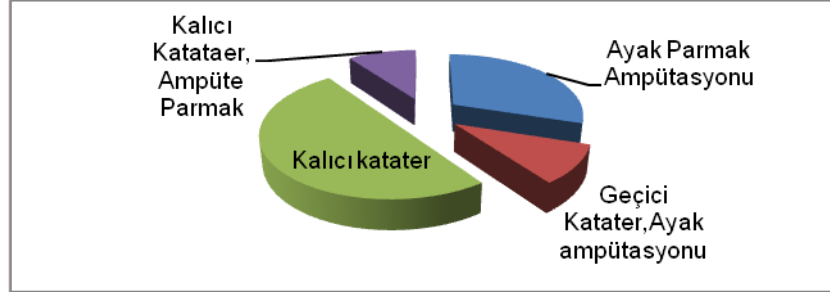
4.BULGULAR

Çalışmamıza kronik böbrek yetmezliği tanısı konulan ve rutin olarak hemodiyalize giren 18 yaş üstü olası hepatit C virüsü bulaş yolları dikkate alınarak araştırılmak üzere 60 hasta alınmıştır. Hastaların demografik verileri Tablo 4.1’de verilmiştir. Diyaliz merkezlerinden yaşları 18 ile 85 arasında değişmekte olan, 24’ü (%40) kadın ve 36’sı (%60) erkek olmak üzere toplam 60 hastadan kan alınmıştır. Hastaların ortalama yaşları; 62.75 ± 12.36 yıldır. Hastalara yaş gruplarına göre baktığımızda 18-45 yaş grubunda kadınlar %8.33, erkekler %8.33; 46-65 yaş grubunda kadınlar %58.33, erkekler %47.22; 66 yaş ve üstü yaş grubu kadınlar %33.3, erkekler %44.4 olarak yer almıştır. Hastaların ALT ortalamaları 22.94 ± 20.36 IU/L’dir. Ortalama diyaliz süresi 8.41 (1-19 yıl) yıl bulunmuştur. Hastalar haftada ortalama 3 gün 4’er saat diyalize girmektedir.

Hastaların tümü hepatit bulaş yolları bakımından sorgulandığında, en sık bulaş yolu olarak cerrahi girişim öyküsü (%16.7) kan transfüzyonu (%8.3) ve aile içi bulaş (%0,6) belirlenmiştir (Şekil 4.1) (Tablo 4.2). Cerrahi girişim dağılımı da Şekil 4.2’de görülmektedir.



Şekil 4.1. HCV olası bulaş yolları



Şekil 4.2. Son 6 ayda yapılan cerrahi girişimlerin dağılımı

Tablo 4.1. Hastaların demografik verileri

Demografik Özellikler	Değerler		
Çalışmaya alınan kişi sayısı	60	Kadın	24 (%40)
		Erkek	36 (%60)
Yaş	62.75±12.36	Kadın	62.08±11.4
		Erkek	63.19±12.86
Hemodiyaliz süresi(yıl)	8.41±3.99 (1-19 yıl)		
Haftalık Hemodiyaliz günü	3 gün 4'er saat		
ALT	22.94±20.36 IU/L	<60 IU/L	12.55±8.31 IU/L (56)
		>60 IU/L	86.25±10.56 IU/L (4)
HbsAg	60 negatif		
Anti HBs	Pozitif	6 (%10)	
	Negatif	54 (%90)	
Anti HCV	Pozitif	7 (%11.6)	
	Negatif	53 (%88.4)	
Serumda HCV RNA	Pozitif	7 (%11.6)	
	Negatif	53 (%88.4)	
PKMNH'de HCV RNA	Pozitif	6 (%10)	
	Negatif	54 (%90)	

Tablo 4.2. Hastalarda belirlenen Hepatit C Virüsü olası bulaş yolları

Bulaş Yolları	Sayı ve %
Son 6 Ayda Cerrahi Girişim	10 (%16.7)
Ayak Parmak Ampütasyonu	3 (%5)
Geçici Katater, Ayak Ampüte	1 (%1.7)
Kalıcı Katater	5 (%8.3)
Kalıcı Katater, Ampüte Parmak	1 (%1.7)
Kan Transfüzyonu	5 (%8.3)
Ailede Hepatit	1 (%0.6)

Çalışmaya Anti HCV negatif olan 53 (%88.3) hasta ile pozitif olan yedi hasta (%11.7) alınmıştır. HBsAg tüm hastalarda negatif, antiHBs 54 hastada negatif (%90), 6 hastada pozitif (%10) belirlenmiştir (Tablo 4.3). Hastalardan dördünde ALT 60 IU/ml'dan yüksek bulunmuştur (ALT değerleri 71 ve 91 olan hastalar anti HCV negatif, 88 ve 95 IU/mL olan hastalar anti HCV pozitifdir). Çalışılan testlerden Anti HCV, serumda HCV RNA ve PKMNH'de HCV RNA karşılaştırılması Tablo 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Pozitif Hepatit Göstergeleri

Hepatit Göstergeleri (N:60)	POZİTİF (N)	POZİTİF (%)
HbsAg	0	%0
Anti HBs	6	%10
Anti HCV	7	%11.7

Tablo 4.4. Çalışılan testlerin karşılaştırılması

PKMNH HCV RNA	Anti HCV			Toplam
	Negatif	Pozitif	Toplam	
Negatif	53	1	54	
Pozitif	0	6	6	
SERUM HCV RNA	Negatif	53	0	53
	Pozitif	0	7	7
	Toplam	53	7	60

Çalışmaya dahil edilen 60 hastada HCV tanısal testleri olarak anti-HCV, serum HCV RNA ve PKMNH’de HCV RNA testleri kullanılmıştır. Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları Tablo 4.5’de verilmiştir. Hastalardan 7’sinde (%13.5) anti-HCV pozitifliği ve aynı hasta örneklerinde serum HCV RNA pozitif saptanmıştır. Bu hastaların serum örneklerinde HCV RNA ile eş zamanlı çalışılan PKMNH’de HCV RNA 6 hastada pozitifken bir hastada viral yük tayini bilinmeyen sebeple belirlenememiştir. Bu durumun PKMNH’in tam alınmadığından

kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer hastalarda (n=53) PKMNH'de RNA pozitifliği belirlenememiştir (Tablo 4.6).

Hastaların 17'si 1-5 yıldır, 22'si 6-10 yıldır, 21'i de 11-19 yıldır diyalize girdiği belirlenmiştir. Anti HCV pozitif olguların 2'si 7 yıldır, 5'i 10 yıldan uzun süredir diyalize girmektedir ve ortalama diyaliz yılları 11.71 ± 3.99 yıl olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.5. Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Diyalize Giriş Yılı	ALT	HbsAG	Anti HBs	Anti HCV	Serum HCV RNA	PKMNH HCV RNA	Diyaliz Süresi
1	E	53	19	12	-	+	+	6800	675	Hafta 3 gün 4 saat
2	E	61	7	95	-	-	+	962	-	Hafta 3 gün 4 saat
3	E	73	10	35	-	-	+	855000	380	Hafta 3 gün 4 saat
4	E	63	8	5	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
5	E	24	10	10	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
6	K	60	9	10	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
7	K	34	7	9	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
8	E	65	2	13	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
9	E	66	4	6,5	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
10	E	71	4	10	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
11	E	73	6	11	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
12	E	58	15	88	-	-	+	1660000	2610	Hafta 3 gün 4 saat
13	E	73	12	26	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
14	E	49	14	24	-	-	+	683000	1880	Hafta 3 gün 4 saat
15	E	34	8	20	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
16	K	54	6	20	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
17	E	79	12	6	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
18	E	63	5	9	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
19	E	78	11	9	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
20	E	78	6	12	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
21	E	57	6	8	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
22	E	73	11	18	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
23	E	76	5	12	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
24	K	36	7	11	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
25	K	55	11	16	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
26	E	57	9	14	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
27	K	63	8	4	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
28	K	65	13	14	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat

29	K	63	10	10	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
30	K	63	4	14	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
31	K	69	12	71	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
32	K	58	12	5	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
33	E	63	9	8	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
34	K	66	14	3	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
35	E	51	10	10	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
36	K	69	12	10	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
37	E	55	9	6	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
38	E	79	12	14	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
39	E	76	4	29	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
40	K	85	5	26	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
41	E	58	13	91	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
42	K	48	12	38	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
43	E	61	7	5	-	-	+	2270	756	-	Hafta 3 gün 4 saat
44	K	54	6	20	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
45	K	66	14	3	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
46	E	58	13	7	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
47	K	69	12	4	-	-	+	2580	870	-	Hafta 3 gün 4 saat
48	E	73	10	35	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
49	K	65	13	14	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
50	K	62	12	8	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
51	K	65	1	18	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
52	E	70	2	9	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
53	E	40	2	7	-	+	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
54	K	61	3	11	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
55	E	71	5	12	-	+	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
56	K	80	5	6	-	+	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
57	E	58	5	10	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
58	K	80	2	19	-	-	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
59	E	55	6	4	-	+	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat
60	E	83	4	6	-	+	-	-	-	-	Hafta 3 gün 4 saat

Anti HCV pozitif ve serumda HCV RNA pozitif olan yedi hasta grubunun biyokimyasal ve serolojik parametreleri değerlendirilmiştir. Bu hastaların ALT ortalaması 37.5 ± 38.45 IU/L'dir.

Hem anti HCV hem serum HCV RNA pozitifliği yedi hastada saptanmıştır. Aynı hastaların tam kanlarından elde edilen mononükleer hücrelerde serumlarındaki HCV RNA'dan daha düşük düzeyde HCV saptanmıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Anti HCV, Serumda HCV RNA ve PKMNH'de HCV RNA pozitif olan hastaların yaş, cinsiyet ve hemodiyaliz süreleri

Demografik veriler		Anti HCV	Serumda HCV RNA	PKMNH HCV RNA	
Yaş	60.5±9.2	(+)	(+)	(+)	
Cinsiyet	Erkek	(+)	(+)	(+)	
	Kadın				5
Hemodiyaliz Süresi	12.8±4.1	(+)	(+)	(+)	
	<10 YIL				2(%29)
	>10 YIL				5(%71)
Yaş 61 Cinsiyet : Erkek Hemodiyaliz süresi: 7 yıl		(+)	(+)	(-)	

Anti-HCV'si ve HCV RNA'sı pozitif olan hastaların HCV RNA değerleri serumda 756-1.660.000 IU/L arasında belirlenmiştir. Anti-HCV ve PKMNH'de HCV RNA pozitif olan hastalarda ise HCV RNA değerleri 380-2.610 IU/L arasında saptanmıştır (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Anti HCV, Serumda HCV RNA ve PKMNH'de HCV RNA pozitif bulunan hastaların değerleri ve ALT'leri

Hasta numarası	Anti HCV	Serumda HCV RNA (IU/mL)	PKMNH'de HCV RNA (IU/mL)	ALT
1	(+)	6.800	675	12
2	(+)	962	(-)	95
3	(+)	855.000	380	35
12	(+)	1.660.000	2.610	88
14	(+)	683.000	1.880	24
43	(+)	2.270	756	5
47	(+)	2.580	870	4

Çalışmaya alınan kan örneklerinde PKMNH'de HCV RNA'sı negatif bulunan tek örnekte ise serumda HCV RNA düzeyi 962 IU/mL olarak belirlenmiştir. Anti-HCV'si negatif olan 53 hastanın hiçbirisinde eş zamanlı serum ve PKMNH'de HCV RNA pozitifliği saptanılmamıştır.

5.TARTIŞMA

Dünya nüfusunun yaklaşık % 3'ünü etkileyen HCV enfeksiyonu önemli bir sağlık sorunudur. Dünya genelinde yaklaşık 170-210 milyon HCV ile enfekte hasta bulunmaktadır (Thomas ve ark., 2005; Sy, 2006; Akhan, 2008;). Gelişmiş ülkelerde HCV sıklığı % 1-2 arasında değişmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda anti-HCV pozitifliği oranı % 1-2.4 arasındadır (Sünbül, 2007). Sosyoekonomik düzeyi düşük olanlarda, 40-59 yaş arasında ve erkek cinsiyette prevalans daha yüksek bildirilmektedir. Hastalığın çoğu zaman asemptomatik seyredip sinsi bir şekilde siroz ve HSK'a yol açması, henüz hastalıktan koruyacak aşı veya immünglobulin bulunmaması ve sinsi seyrinden dolayı gerçek prevalansının bilinmemesi, onu diğer hepatit viruslarından ayırmaktadır. Kan-kan ürünleri transfüzyonu, doku-organ transplantasyonu ve damar içi uyuşturucu kullanımı HCV bulaşı için en iyi tanımlanmış risk faktörlerindedir.

Hepatit C virusü en sık görülen karaciğer hastalıklarının başında gelme nedenleri, HCV vakaların %85'inin kronikleştiği, karaciğer sirozundan olan ölümlerin ve nakil nedenlerinin başında geldiği sonradan yapılan çalışmalarla anlaşılmaktadır. Bu nedenle HCV enfeksiyonu önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir ve hemodiyaliz hastalarında bulaş riski diğer gruplara göre daha yüksektir. Kronik HCV vakalarının % 20'sinde siroz gelişmekte, bunların da % 1-4 'ünde zaman içinde HSK gelişebilmektedir (Massard ve ark., 2006). Son 15 yılda hastalığın bulaş yolları değişiklik göstermektedir. Kan bankalarında HCV taramasının gündeme geldiği 1990'den sonra transfüzyon HCV için başlıca bulaş yolu olmaktan çıkmış, toplumdan kazanılan HCV olguları ile çeşitli cerrahi girişimler, damar yolu ile ilaç kullanımı ve cinsel temas ile bulaşan hastalık daha ön plana çıkmaktadır. Sağlıklı popülasyonda yapılan kohort çalışmalarında anti HCV

prevalansı %1.2-2.6 arasında değişirken, hemodiyaliz hastalarında %6.8-51.6, sağlık çalışanlarında %0.2-1, kan donörlerinde %0.05-1.5 gibi rakamlar bildirilmektedir (Sünbül,2007).

Hepatit C virüsü enfeksiyonu açısından diyaliz hastaları diğer hasta gruplarına göre daha fazla risk altındadırlar. Bu risk faktörleri; diyaliz süresi, diyaliz tipi, diyaliz ünitesindeki HCV enfeksiyonu prevalansı ve kan transfüzyonu sıklığıdır. Kan nakli ile HCV bulaş olasılığı günümüzde 100.000 de bir olup, taramada nükleik asit teknolojisi kullanıldığında bu olasılık 1/500.000 ile 1/1.000.000' a kadar düşmektedir Asıl sorun ise hemodiyaliz ünitelerinde enfeksiyon kontrol önlemlerinin yetersiz uygulanmasından kaynaklanmaktadır (Mauss, 2009). Çalışmamızdaki hastaların %8.3'ünde en az bir defa kan transfüzyonu yapıldığı ve hastalardan hiçbirinin intravenöz ilaç kullanımı öyküsünün olmadığı, son altı ay içerisinde on hastanın cerrahi girişim öyküsü olduğu belirlenmiştir.

Hastalığın doğal seyri sürecinde hastaların çoğunda ilerleyici karaciğer hasarının ortaya çıkışı sinsidir. Hastaların yaklaşık 1/3'ünde 15-20 yıl içinde (hızlı fibrotik ilerleme), 1/3'ünde 20-30 yıl içinde (intermediate fibrotik ilerleme) ve 1/3'ünde ise 30 yıldan sonra (yavaş fibrotik ilerleme) siroz gelişmektedir. Hepatit C Virüs ile temas olgularında iyileşme % 15-25'inde gözlenirken, % 75-85'inde kronik hepatit gelişmektedir. Normal ALT'li kişilerde hastalığın ilerleme hızı yavaştır. Enfeksiyonun oluşma yaşı hastalığın kronikleşme riski ve ilerleme hızı ile ilişkili olan en önemli faktörlerdendir (Akhan, 2008; Chen, 2006).

The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS) adlı çalışma birçok farklı ülkenin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada yer alan ülkelerde hemodiyalize giren hastaların yaş ortalaması 58-62 yıl arasında tespit

edilmiştir. Erkeklerin diyalize girme oranı kadınlardan fazla olup Fransa’da diyalize giren hastaların %57.8’i, Almanya’da %54.3’ü, ABD’de %52.9’u, Japonya’da %61.1’i erkektir olduğu belirlenmiştir (Young ve ark., 2000). Ülkemizde Türk Nefroloji Derneği tarafından kaydedilen 2009 yılı sonu verilerine göre, ülkemizde diyalize giren hasta sayısı 46 650’dir . Bu hastaların %55.4’ü erkek, 44.6’sı kadın olup, %42.4’ü 45-64 yaş arasında olduğu görülmüştür. Ülkemizde HCV seroprevalansı 2009 yılı sonu itibariyle %9.8 olarak saptanmıştır (Serdengeçti ve ark., 2009). Çalışmamızda ise hemodiyalize giren hastaların 36 (%60)’ı erkek, 24 (%40)’ı kadındı ve yaş ortalaması; 62.75±12.36 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda hastaların ortalama diyaliz süresi 8.41 (0-19) yıl olarak hesaplanmıştır ve hastalar haftada ortalama 3 gün (4 saat) diyalize girdiği belirlenmiştir.

Türk Nefroloji Derneği’nin raporuna göre 659 diyaliz merkezinden 37.955 kronik hemodiyaliz hastasının hepatit göstergeleri; %4.4’ünde HBsAg, %9.8’inde anti-HCV ve %0.6’sında ise hem HBsAg hem antiHCV pozitifliği olarak bildirilmiştir (Serdengeçti ve ark., 2010). Çalışmamıza dahil olan hastalarda HBsAg pozitifliği saptanmamıştır.

Fabrizi ve ark. (1998)’nin çalışmasında hemodiyalize giren 394 hasta değerlendirilmiştir. Hastaların %22.3’ünde serolojik veya virolojik olarak HCV enfeksiyonunun pozitif saptanan hastalarda karaciğer fonksiyon testlerinin normal olduğu saptanmıştır. Anti HCV’nin pozitif bulunması her zaman HCV RNA’nın pozitif olduğu anlamına gelmez. Anti HCV pozitif bulunan diyaliz hastalarının ancak %52-93’ünde HCV RNA belirlenebilmektedir. Anti HCV pozitifken HCV RNA’nın negatif olması durumunda bazı olasılıklar değerlendirilmelidir. Bunlar; HCV’nin kan dolaşımını dışında PKMNH veya karaciğer gibi başka bir yerde enfekte olması, test esnasında HCV RNA’nın plazmada bulunmaması, HCV RNA’nın test için belirlenmiş olan sınır değerinin altında olması, kişinin virus ile enfekte olduktan sonra plazmadaki viral RNA’nın kaybolmasına rağmen anti-HCV

varlığının uzun süre devam etmesi veya anti-HCV'nin pasif olarak kan transfüzyonu sırasında kazanılabilmektedir (Barril ve ark., 2008).

Ayrıca hemodiyaliz işlemi sırasında diyaliz cihazının iç yüzeyine HCV RNA yapışabilir veya kan tarafından oluşturulan hidrolik basınç nedeniyle viral partiküller parçalanabilir, dolayısıyla PCR diyalizden hemen sonra çalışıldığında yanlış negatif sonuçlar alınabilir. Anti HCV'nin kan transfüzyonu ile kazanılması halinde, yarılanma ömrü doğrultusunda sonraki birkaç hafta içinde kaybolması beklenir. Bunların yanı sıra diyaliz sırasında rutin olarak kullanılan heparin PCR ile etkileşmekte ve yanlış negatif sonuçlara neden olabilmektedir. Bu nedenle PCR çalışılacak kan numunesinin diyaliz öncesinde alınması önerilmektedir.

Castillo ve ark. (2004)'nin yaptığı çalışmada karaciğer fonksiyon testleri yüksek 100 hastanın serumunda anti-HCV ve HCV RNA negatifken, karaciğer biyopsi materyallerinde %57 oranında HCV RNA tespit edilmiştir. Hastaların %70'inde PKMNH'de viral RNA tespit edilmiştir. OCH ilk olarak Castillo ve ark. (2004) tarafından kronik karaciğer hastalığının etiyolojisinde occult bir etken olarak tanımlanmıştır. PKMNH'de HCV RNA'nın belirlenebilirlik oranı %0-50 arasındayken, karaciğer dokusunda bu oran %0 ile %83 arasındadır (Carreno, 2006). PKMNH'de HCV RNA tespiti OCH'li hastalarda tanı koymada yardımcı olsa da viral RNA'nın karaciğerde tayini altın standarttır (Carreno ve ark., 2004; Barill ve ark., 2008; De Marco ve ark., 2009; Zaghloul ve El-Sherbiny, 2010).

Tagiuri ve ark. (2008)'nin çalışmasında kronik karaciğer hastalığı olan 26 hasta ile alkolik ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı olan 57 hastanın hiçbirisinde ne serumda ne de PKMNH'de HCV RNA belirlenememiştir. HCV RNA ve anti HCV serumda belirlenemezken karaciğer hücresinde virusun çoğalmaya nasıl devam ettiği sorgulanmıştır. Muhtemeldir ki HCV RNA ve anti-

HCV negatifken gelişen bir mutasyon ile virusun translasyon kapasitesi, kapsül oluşma aşaması veya virionun kan dolaşımına salınma aşaması etkilenmektedir. Bu da viremi seviyesinin ve anti HCV antikorlarının düşük seviyelerde oluşmasına neden olmaktadır. Düşük düzeyde antikor ve HCV RNA ise mevcut serolojik ve PCR yöntemlerinin duyarlılığından dolayı belirlenmemektedir (Carreno, 2006). HCV RNA'nın karaciğer hücresinde belirlenmesi en önemli tanı yöntemi olmasına rağmen, karaciğer biyopsisinin invaziv bir işlem olması nedeniyle her hastada uygulanabilir bir yöntem olmadığı açıktır. Biyopsinin tek başına yeterli olmaması ve HCV'nin lenfotropik özelliğinden dolayı son yıllarda PKMNH'de HCV RNA saptanmasının duyarlılığı araştırılmaktadır. Ultrasantrifüj ile viral partiküllerin konsantrasyonu sonucu PKMNH'de HCV RNA tayini ile OCH tanısı alternatif bir yöntem olarak araştırılmıştır (Bartolome ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada hemodiyalize giren 231 hastadan üç yıl süreyle, altı ayda bir anti-HCV, serumda ve PKMNH'de HCV RNA çalışılmak üzere kan toplanmış ve hastaların 11'inde serumda HCV RNA negatifleşirken, bu hastaların ikisinin PKMNH'de HCV RNA tespit edilmiştir. Bu araştırma göstermiştir ki son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda diyaliz hayat kurtarıırken HCV için risk oluşturmaktadır. Hemodiyaliz ünitelerindeki salgınların araştırılması ve kontrolü için serumda anti HCV ve HCV RNA yanında PKMNH'de viral RNA tayini de önem taşımaktadır (Thongsawat ve ark., 2008).

Idrees ve ark. (2011)'nin çalışmasında bir yıl süreyle karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik olup etiyojisi aydınlatılamamış 31 hasta değerlendirilmiştir. Hastaların serum örneklerinde serolojik ve viral göstergeler negatif bulunmuş ve yapılan karaciğer biyopsisinde 31 hastanın 23 (%75)'ünde HCV RNA tespit edilmiştir. Hastaların 8 (%75)'inde ise HCV'nin hepatosit içerisinde replike olduğu gösterilmiştir. Idrees ve arkadaşlarının 2013 yılında Pakistan'da yaptıkları bir çalışmada anti HCV negatif , serum HCV RNA' sını negatif, anormal karaciğer

enzim yüksekliği olan 31 hastanın karaciğer biyopsilerinde HCV RNA varlığına bakılmıştır ve %73.2 sinde HCV RNA saptanmıştır. HCV RNA saptanan örneklerin genotipleri de incelenmiş olup 3 hastada genotip 1a, %65.2'si genotip 3a, %17.4'ü Genotip 3b saptanmış bir hastada tiplendirilememiştir.

Zaghloul ve ark. (2010) tarafından yapılan araştırmada iki grup hasta değerlendirilmiştir. Gruplardan birisinin karaciğer testlerinde persistan yükseklik varken diğer grup HCV tedavisine KVV vermiş hastalardan oluşmuştur. Bu gruplardan birincisinde karaciğer enzim anormalliği olup, etiyolojisi aydınlatılamamış 40 hasta çalışmaya alınmış, hastalardan dördünde PKMNH'de HCV RNA pozitif bulunmuştur. İkinci grupta ise IFN ve ribavirin tedavisi almış 62 KCH hastası değerlendirilmiş, KVV elde edilmiş olan hastaların yedisinde PKMNH'de HCV RNA pozitif saptanmıştır. Tedaviye yanıt vermiş olan hastalarda PKMNH'de viral RNA'nın pozitif olması tedavi öncesinde viral yükün, negatif olan hastalara göre daha yüksek olmasına bağlanmıştır ki viral yükün tedaviye yanıtta önemli bir prognostik faktör olduğu bilinmektedir.

Barril ve ark. (2008)'nin çalışmasında karaciğer fonksiyon testlerinde anormallik olan hastaların değerlendirildiği hemodiyalize giren hastalarda %45 oranında OCH tespit edilirken, Zaghloul ve ark. (2010)'nin çalışmasında OCH oranı %10'dur. Zaghloul çalışmasındaki hastalarını rastgele seçerken Barril ve ark. (2008)'nin çalışmasında diyalize giren hastaların alınmış olmasından dolayı OCH oranı daha yüksek çıkmış olabilir.

Castillo ve ark. (2010)'nin çalışmasında serumda anti-HCV ve HCV RNA negatifken karaciğerde HCV RNA tespit edilerek OCH tanısı almış olan 122 hasta ve serumda bakılan anti-HCV ve HCV RNA ile karaciğerde HCV RNA negatif olarak test edilmiş ve 45 kişiden oluşan kriptojenik kronik hepatit olgusundan

oluşan kontrol grubu değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmaya alınan hastaların tümünde PKMNH’de ve ultrasantrifüj uygulanmış serumda HCV RNA ile “in house” EIA yöntemiyle anticore HCV test edilmiştir. Karaciğerde HCV RNA pozitif bulunan hastaların %36’sında anti-core HCV, %57’sinde ultrasantrifüj sonrası serumda test edilen HCV RNA ve %61’inde PKMNH’de HCV RNA pozitif olarak belirlenmiştir. Tüm sonuçlar birleştirildiğinde hastaları %91’inde en az bir gösterge pozitif bulunmuştur. Kontrol grubunda ise tüm göstergeler negatif olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada karaciğerde HCV RNA replikasyonu üç gösterge pozitif olduğunda %93, iki gösterge pozitif olduğunda %82, biri pozitif olduğunda %73, tüm göstergeleri negatif olduğunda ise %27 oranında belirlenmiştir. Çalışmada hastaların %91’inde serumda anti-core HCV, HCV RNA ve PKMNH’de HCV RNA bakılarak karaciğer biyopsis gerekmeden OCH tanısının konabileceği vurgulanmıştır. Tanısal testler birbirinden bağımsız değerlendirildiğinde HCV enfeksiyonu sıklığı değişik oranlarda belirlenmiştir.

Çalışmamızda hastadan alınan kanlar diyaliz uygulamasından hemen önce alınmıştır. Hastaların 53 (%88,4)’ünde anti HCV negatif, 54 (%90)’ünde PKMNH’de HCV RNA’sı negatif ve bir hastada PKMNH’de HCV RNA saptanamamıştır.

Bozkurt (2011)’in çalışmasında 100 hastadan alınan numunede plazma HCV RNA’sı <500 IU/mL olan yedi hastanın hepsinde PKMNH’de HCV RNA sonuçları negatif olarak bulunurken, bu hastaların altısında anti HCV de negatif bulunmuştur. Plazma HCV RNA’sı >500 IU/mL olan dört hastanın hem anti-HCV hem de PKMNH’de HCV RNA sonuçları pozitif bulunmuştur. Anti HCV’si pozitif olan 10 hastadan beşinin plazma HCV RNA’sı, dördünün PKMNH’de HCV RNA’sı pozitif bulunmuştur. Anti-HCV’si ve plazma HCV RNA’sı pozitif olan hastaların HCV RNA değerleri 211-3.910.000 IU/L arasında belirlenmiştir. Bu çalışmada 100 hastanın 19’unda HCV tanısal testleri olarak kullanılan anti-HCV, plazma HCV

RNA ve PKMNH'de RNA testlerinden en az biri pozitif ve OCH sıklığı %3.6 iken hem plazma hem de PKMNH'de HCV RNA tetkiki birlikte kullanıldığında HCV enfeksiyonu sıklığı %14 iken, üç tanı testi birlikte değerlendirildiğinde ise HCV enfeksiyonu sıklığı %19'a çıktığı saptanmıştır.

Çalışmamızda anti-HCV'si ve HCV RNA'sı pozitif olan hastaların HCV RNA değerleri serumda 756-1.660.000 IU/L arasında belirlenmiştir. Anti-HCV ve PKMNH'de HCV RNA pozitif olan hastalarda ise HCV RNA değerleri 380-2.610 IU/L arasında belirlenmiştir. Çalışmaya alınan kan örneklerinde PKMNH'de HCV RNA'sı negatif bulunan tek örnekte ise serumda HCV RNA düzeyi 962 IU/mL olarak belirlenmiştir. Anti-HCV'si negatif olan 53 hastanın hiçbirisinde eş zamanlı serum ve PKMNH'de HCV RNA pozitifliği saptanamamıştır.

Hepatit C virus enfeksiyonu açısından yüksek risk altındaki hemodiyaliz hastalarında yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalar OCH'nin gerçek prevalansının saptanmasını, diyaliz hastaları ve halk sağlığı açısından ne kadar önemli olduğunun anlaşılmasını sağlayacaktır. En önemlisi bu hasta grubunda karaciğer biyopsisine gerek kalmadan serumdan rutin kullanımda moleküler testlerin çalışılmasına, diyaliz makinelerinin ortak kullanımı konusundaki tartışmalara yol gösterecek ve OCH'li hastaların tedavilerinin net olarak belirlenmesine yardımcı olacaktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmaya rutin olarak hemodiyalize giren 18 yaş üstü kronik böbrek yetmezliği olan 60 hasta alınmıştır. Hastaların 36'sı (%60) erkek ve 24'ü (%40) kadın olduğu belirlenmiştir. Hastaların ortalama yaşları; 62.75 ± 12.36 yıl bulunmuştur. Ortalama diyaliz süresi 8.41 (1-19 yıl) yıldır ve hastalar haftada ortalama 3 gün (4 saat) diyalize girmiştir. Olguların ALT değeri normal ve ortalama olarak 22.94 ± 20.36 IU/L bulunmuştur. Hastalarda HCV'nin en sık bulaş yolunun cerrahi girişim ve kan transfüzyonu olduğu belirlenmiştir.

Hastaların hepatit göstergeleri Anti HCV negatif olan 53 (%88.3), pozitif olan yedi hasta (%11.7) bulunmuştur. HbsAg tüm hastalarda negatif, anti HBs negatif olan 54 hasta (%90), pozitif olan 6 hasta (%10) belirlenmiştir. 4 hastada ALT 60 IU/ml'dan yüksek, ALT değerleri 71 ve 91 olan hastalar anti HCV negatif, 88 ve 95 IU/mL olan hastalar anti HCV pozitif bulunmuştur. Çalışmaya dahil edilen 60 hastada HCV tanılal testleri olarak anti-HCV, serum HCV RNA ve PKMNH'de HCV RNA testleri kullanılmıştır. Bu hastalardan 7 (%13.5)'sinde anti-HCV pozitifliği ve aynı hasta örneklerinde serum HCV RNA ve PKMNH'de HCV RNA pozitifliği saptanmıştır. 53 hastanın PKMNH'de RNA pozitifliği belirlenememiştir. Anti-HCV'si ve HCV RNA'sı pozitif olan hastaların HCV RNA değerleri serumda 756-1.660.000 IU/L arasında belirlenmiştir. Anti-HCV ve PKMNH'de HCV RNA pozitif olan hastalarda ise HCV RNA değerleri 380-2.610 IU/L arasında saptanmıştır. Viral göstergeleri pozitif olan hastaların hiçbirisinde karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik saptanmamıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile Tagiuri ve ark. (2008)'nin çalışma sonucu ile paralellik göstermekle beraber Dünya'daki benzer diğer çalışmalarla ve Türkiye'de Bozkurt (2011)'in yaptığı çalışma ile uyum göstermemektedir. Bu durum kullanılan yöntemlerden ve ya kullanılan malzemelerden kaynaklı olabilir.

HCV antikorları ve serum HCV-RNA'sı negatif olan hastalar karaciğer enzim değerleri yüksek olan hastalarda intrahepatik HCV-RNA saptanabilir. HCV'nin karaciğerde ve PKMNH'de replikasyonu sonucunda dolaşımda viral partiküller olabilir ancak çok duyarlı PCR yöntemleri kullanılsa bile virus düşük konsantrasyonda olduğu için tespit edilemez. Bu gibi durumlar için düşük konsantrasyonlarda viral partikülleri saptayan cihazların kullanımı artırılmalı ve yaygınlaştırılmalıdır.

Karaciğer biyopsisine alternatif olarak hasta serumunda PKMNH'de HCV RNA düşük düzeyde tespit edildiğinde bu tip hasta gruplarına OCH tanısı konulur. Eğer hasta karaciğer biyopsisi için uygun değilse PKMNH'de ve ultrasantrifüj edilmiş serumda HCV RNA araştırılmalı, sonuçta testlerden en az biri pozitifse OCH tanısı konmalıdır. Her iki test de negatifse OCH tanısını dışlamak için 3-4 ayda bir, bir yıl süreyle testlerin tekrarı önerilir.

Diyaliz hastalarında hemodiyaliz işlemi sırasında diyaliz cihazının iç yüzeyine HCV RNA bulaşabilir veya kan tarafından oluşturulan hidrolik basınç nedeniyle viral partiküller parçalanarak hastaya bulaşabilir. Bu nedenle PCR işlemi için diyaliz hastalarından kan alınırken dikkat edilmesi gerekenlerden birisi diyalizden hemen sonra kanın alınmamasıdır. Böylelikle yanlış negatiflik sonucunun önüne geçilmiş olunur. Ayrıca anti HCV'nin kan trasfüzyonuyla kazanılması durumunda yarılanma ömrü doğrultusunda son bir kaç hafta içinde kaybolması beklenir. Diyaliz hastalarının rutin olarak kullandıkları heparin PCR ile

etkileşerek yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir. Bu nedenle PCR çalışılacak kanın diyaliz öncesinde alınması gerekmektedir. Hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun sessiz seyretmesi hastalığın ilerlemesi ve virusun bulaşı açısından önemli bir risk oluşturur

Occult HCV enfeksiyonu varlığı konusunda yayınlar farklılık göstermektedir ancak bu konuda hala yeterli çalışma bulunmamaktadır. Öncelikle yüksek risk altındaki hemodiyaliz hastalarında yapılacak olan geniş kapsamlı araştırmalar OCH'nin gerçek prevalansının saptanmasını, diyaliz hastaları ve halk sağlığı açısından ne kadar önemli olduğunun anlaşılmasını sağlayacaktır. En önemlisi bu hasta grubunda karaciğer biyopsisine gerek kalmadan serumdan rutin kullanımda moleküler testlerin ve PKMNH'de HCV RNA'nın bakılması OCH'li hastaların tedavilerinin net olarak belirlenmesine yardımcı olacaktır.

7. ÖZET

DİYALİZ HASTALARINDA OCCULT HEPATİT C'NİN ARAŞTIRILMASI

Occult C Hepatit (OCH) karaciğer enzimleri yüksek veya normal olan, serumda anti-HCV ve serumda HCV RNA negatif saptanan hastalarda Periferik Kan Mononükleer Hücrelerde (PKMNH) HCV RNA'nın pozitif bulunması olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada hemodiyaliz hastalarında OCH sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya rutin olarak hemodiyalize giren 18 yaşın üzerindeki kronik böbrek yetmezliği olan 60 hasta alınmıştır. Hastaların demografik verileri, HCV için olası bulaş yolları, hemodiyaliz süresi, karaciğer fonksiyon testleri, hepatit göstergeleri ile serumda ve PKMNH'de HCV RNA araştırılmıştır. Hepatit göstergeleri Enzyme İmmunoassay (EIA) (VITROS) yöntemi ile serum ve PKMNH'de HCV RNA ise Real Time PCR yöntemi (TaqMan 48, Roche) ile araştırılmıştır. PCR testinin ölçüm aralığı $15-1.7 \times 10^8$ IU/mL, hassasiyeti ise 15 IU/mL'dir.

Hastaların yaş ortalaması 62.75 ± 12.36 yıl, %60'ı erkek olup ortalama diyaliz süresi 8.41 ± 3.99 (1-19) yıl olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya alınan ALT değeri yüksek ya da normal, anti HCV'si negatif olgularda serumlarında ve PKMNH'de PCR yöntemi ile HCV RNA araştırılmış ve occult Hepatit C olgusuna rastlanmamıştır.

Hemodiyaliz hastalarında HCV enfeksiyonunun sessiz seyretmesi hastalığın ilerlemesi ve virusun bulaşı açısından önemli bir risk oluşturur. PKMNH'de HCV RNA araştırılması occult enfeksiyonu saptamaya yardımcı olacak noninvaziv bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: Diyaliz, Occult HCV , periferik kan mononükleer hücreleri.

8. SUMMARY

INVESTIGATION OF OCCULT HEPATITIS C IN DIALYSIS PATIENTS

Occult Hepatitis C (OHC) virus infection (i.e., detectable HCV-RNA in the liver or peripheral blood mononuclear cells) in the absence of both serum HCV-RNA and anti-HCV antibodies has not been investigated in hemodialysis patients. This study aimed to evaluate the use of combining non-invasive assays to diagnose occult HCV.

Sixty end stage renal disease patients, over 18 years old, receiving hemodialysis treatment were enrolled in this study. Participants' demographic data, type of vascular access in hemodialysis patients, duration of hemodialysis were all evaluated. Serum samples were tested for liver function tests and serological markers for hepatitis with EIA (Vitros). HCV RNA was extracted from the serum samples and PBMCs by using real-time PCR (Taqman 48, Roche). Occult HCV infection was described in patients with or without high liver function tests of unknown etiology and it is characterized by the presence of HCV RNA in the PBMCs despite negative results for anti-HCV and for serum HCV RNA as tested by conventional assays.

The mean age of the patients was 62.75 ± 12.36 years and 60% were male and the average duration of dialysis was 8.41 ± 3.99 (1-19) years. Plasma HCV RNA and PBMCs RNA tests were not found positive in all anti-HCV negative and high ALT hemodialysis patients.

Silent progression of HCV infection may cause progression of the disease and could be potential risk for the transmission of the virus. Detection of HCV RNA status in PBMCs of the patients, is non-invasive method that will help to determine occult infection.

Key Words: Dialysis, peripheral blood mononuclear cells, Occult HCV

9. KAYNAKLAR

- AKHAN S. (2008). Hepatit C virüsü. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M. (eds), Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyoloji (3. Baskı) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, ss. 1911-28.
- AKINCI E, BODUR H. (2007). HCV enfeksiyonunda klinik ve tanı. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds), Viral hepatit 2007 (1.baskı) Viral Hepatitle Savaşım Derneği. Orhan Matbaası, İstanbul, ss. 220-6.
- AKKIZ H. (2003). HCV Enfeksiyonu: Epidemiyoloji ve korunma. Viral Hepatit 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, ss. 199-216.
- ALTINDIS M, YOLDAS O, BULUT A, DEMİRAL T, DEMİRTÜRK N. (2013). ‘‘IL28B polymorphisms associated with therapy response in turkish chronic hepatitis C patients’’. The 5th Eurasia Congress of Infectious Diseases, 15-18 May 2013, Tirana, Albania.
- ALTER HJ, SEEF LB. (2000). Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on longterm outcome. Semin Liver Dis, ss. 20;17-35.
- ALTER MJ. (2002). Prevention of spread of hepatitis C. Hepatology, ss. **36(5 Suppl 1):** S93-8.
- ALTER MJ. (2007). Epidemiology of hepatitis C virus infection. World J Gastroenterol, ss. **13 (17):** 2436-41.
- ALTUGLU I, SOYLER I, OZACAR T, ERENŞOY S. (2008). Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. Int J Infect Dis, 12: 239 -244.
- AYGEN B. (2006). Hepatit C. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, **2(16):**ss. 21-33.
- AYGEN B, ŞENTÜRK H. (2007). Hepatit C enfeksiyonunda tanı ve tedavi. 2. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi Konsensus Toplantısı Raporu. Antalya, ss. 21-32.
- AYKIN N, CEVİK F, DEMİRTURK N, DEMİRDAL T, ORHAN S, NAZ H. (2008). AntiHCV positivity in sexual partners and offspring of patient with chronic hepatitis C. Scand J Infect Dis. **40(6-7):** 533-7.
- AYYILDIZ A, AKTAS AE, YİĞİT N, USLU H. (2000). Atatürk Üniversitesi dış hekimliği çalışanlarının hepatit B ve C yönünden incelenmesi. Viral Hepatit Dergisi, **6:**113- 115.
- BACON BR. (2002). Treatment of patients with hepatitis C and normal serum aminotransferase levels. Hepatology, **36 (1):** 179-84.
- BARE P. (2009). Hepatitis C virus and peripheral blood mononuclear cell reservoirs World J Hepatol, **1(1):** 67-71

- BARRIL G, CASTILLO I, ARENAS MD, ESPINOSA M, GARCIA-VALDECASAS J, CARRENO V. (2008). Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, **19**: 2288 –92.
- BARTOLOME J, LOPEZ-ALCOROCHO JM, CASTILLO I, et al. (2007). Ultracentrifugation of serum samples allows detection of hepatitis C virus RNA in patients with occult hepatitis C. *J Virol*, **81**:7710-5.
- BARUT H, GÜNAL Ö. (2009). Dünyada ve Ülkemizde Hepatit C Epidemiyolojisi. *Klinik Dergisi*, **22 (2)** : 38-43.
- BRASS V, MORADPOUR D, BLUM HE. (2006). Molecular Virology of Hepatitis C Virus (HCV): 2006 Update. *Int J Med Sci* , **3**:29-34.
- BOZKURT İ. (2011). Bölgemizdeki Hemodiyaliz Hastalarında Hepatit C Virus Enfeksiyonunun Epidemiyolojik Özellikleri ve “Okkült” C Hepatiti Sıklığının Araştırılması.
- CALABRESE F, PONTISSO P, PETTENAZZO E, et al. (2000). Liver cell apoptosis in chronic hepatitis C correlates with histological but not biochemical activity or serum HCV-RNA levels. *Hepatology* **31**: 1153-1159.
- CALIENDO AM, VALSAMAKIS A, ZHOU Y, YEN-LIEBERMAN B, ANDERSEN J, YOUNG S, et al. (2006). Multilaboratory comparison of hepatitis C virus viral load assays. *J Clin Microbiol*, **44**:1726-32.
- CARRENO V, CASTILLO I, BARTOLOME J, et al. (2004). Comparison of hepatitis C virus RNA detection in plasma, whole blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C virus infection. *J Clin Virol*, **31**:312-3.
- CARRENO V. (2006). Occult hepatitis C virus infection: a new form of hepatitis C. *World J Gastroenterol*, **12**: 6922–5.
- CARRENO V., BARTELOME J., QUIROGA JA. (2008). Occult hepatitis B virus and occult hepatitis C virus infections. *Rev Med Virol*, **178**:139-57.
- CARRENO V., BARTOLOMÉ J., CASTILLO I., QUIROGA JA. (2012). New perspectives in occult hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*, **18(23)**: 2887-2894
- CARUNTU FA., BENE A L. (2006). Acute hepatitis C virus infection: Diagnosis, pathogenesis, treatment. *J Gastrointestin Liver Dis*, **15**: 249-256.
- CASTILLO I., PARDO M., BARTOLOMÉ J., et al. (2004). Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver function tests is unknown. *J Infect Dis*, **189**:7 –14.
- CASTILLO I., RODRIGUEZ-INIGO E., BARTOLOME J., et al. (2005). Hepatitis C virus replicates in peripheral blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C virus infection. *Gut*, **54**: 682–5.
- CASTILLO I., RODRIGUEZ IE., LOPEZ AJM., BARTOLOME J., PARDO M. (2007). Comparative study on the clinical and the virological characteristics among patients with

single occult hepatitis B virus (HBV) single hepatitis C virus (HCV) and occult HBV and HCV dual infection. *J Med Virol* , **79**:236-41.

CDA (2012). <http://www.centerforda.com/HepC/HepMap.html>

CDC. (2003). Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. *MMWR*, 52(No. RR-3)

CHEN S., WANG YM. (2005). Multigene tracking of quasispecies in viral persistence and clearance of hepatitis C virus. *World J Gastroenterol*, **11 (19)**: 2874-84.

CHEVALIEZ S., PAWLOTSKY JM. (2006). Hepatitis C virus serologic and virologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *Int J Med Sci.*, **3**: 35-40.

CHEVALIEZ S., RODRIGUEZ C., PAWLOTSKY JM. (2012). New Virologic Tools for Management of Chronic Hepatitis B and C. *Gastroenterology*,**142**:1303-13.

CHOPRA S. (2004). Epidemiology and transmission of hepatitis C virus infection. In: *UpToDate*, Rose, BD (Ed), UpToDate, Wellesley, MA,.

COLIN C., LANOIR D., TOUZET S., MEYAUD-KRAEMER L., BAILLY F., TREPO C. (2001). HEPATITIS Group. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat. Mar*, **8**: 87 - 95.

COMAR M., DAL MOLIN G., D'AGARO P., et al. (2006). HBV, HCV and TTV detection by in situ polymerase chain reaction could reveal occult infection in hepatocellular carcinoma: comparison with blood markers. *J Clin Pathol*, **59**:526-9.

DAVID L., THOMAS MD. (2001). Hepatitis C: Epidemiologic quandaries. *Clin Liver Dis*, **5**: 225-232.

DEMİRTÜRK N. (2011). Kronik hepatit C tedavisinde yeni seçenekler. *Genel Tıp Derg*, **21(4)**: 163-16

DIBISCEGLIE AM. (2000). Natural History of Hepatitis C: Its impact on clinical management. *Hepatology*, **31**: 1014-1018.

DIENSTAG JL., ISSELBACHER KJ. (2005). Chronic hepatitis In: Hauser K, Longo B, Jameson F (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine* (16th ed) McGraw-Hill New York, 1844-55.

DÖKMECİ A., SARIOĞLU M. (2001). Hepatit C virüs infeksiyonu ve tedavisi. *Modern Tıp Seminerleri. Günes Kitabevi* , **12**: 81 – 106.

DURMAZ R. (2005). HCV mutasyonları. *Viral Hepatit 2005. Viral Hepatitle Savasım Derneği*, 169 – 174.

- EGGER D., WOLK B., GOSERT R., et al. (2002). Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol*, **76**:5974-84.
- ELLETHY AT., SLIEM HA., HASSAN GM. (2012). Updated Molecular Diagnosis of Chronic Hepatitis C. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*; **1(8)**: 147-152 Available from: URL: <http://www.ghrnet.org/index.joghr/> , <http://www.ghrnet.org/index.php/joghr/article/view/169/410>
- ERSÖZ G. (2012) Hepatit C Enfeksiyonu Tedavisinde Konakla İlgili Faktörler, IL28B Polimorfizmi. *ANKEM Derg*, **26(Ek 2)**:144-149
- ESAKI T., SUZUKI N., YOKOYOMA K., et al. (2004). Hepatocellular carcinoma in patient with liver cirrhosis associated with negative serum HCV test but positive liver tissue HCV RNA. *Intern Med*, **43**:279-82.
- ETİZ N., TÜRKOĞLU S. (2005). Viral hepatitlerin tanısında kullanılan testler ve standardizasyon. *Viral Hepatit 2005*. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 128 – 150
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guideline: Management of hepatitis C virus infection, *J Hepatol* 2011;55(2):245-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2011.02.023>
- FABRIZI F., MARTIN P. (2008). Occult hepatitis C virus infection in hemodialysis. *Am Soc Nephrol*;19:2248-50.
- FABRIZI F., MARTIN P., DIXIT V., et al. (1998). Acquisition of hepatitis C virus in hemodialysis patients: a prospective study by branched DNA signal amplification assay. *Am J Kidney Dis*, 31:647-54
- GHANY MG., STRADER DB., THOMAS DL., SEEF LB. (2009). AASLD Practice guidelines diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*, 1335-74.
- GHANY MG., NELSON DR., STRADER DB., THOMAS DL., SEEFF LB (2011). American Association for Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for Study of Liver Diseases, *Hepatology*, **54(4)**: 1433-44. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.24641> PMID:21898493 PMCID:3229841
- GRIFFIN SD., BEALES LP., CLARKE DS, et al. (2003). The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, amantadine. *FEBS Lett*, **535**:34-8.
- HADZIYANNIS SJ., SETTE H JR., MORGAN TR et al. (2004). Peginterferon alfa-2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. A randomized study of treatment duration and ribavirin dose, *Ann Intern Med*, **140(5)**:346-57. PMID:14996676
- HARDIKAR W. (2002). Hepatitis C in childhood. *J Gastroenterol and Hepatol*, **17**: 476–481.
- IDREES M., LAL A., MALIK AF., et al. (2011). Occult hepatitis C infection and associated predictive factors: the Pakistan experience. *Infect Genet Evol*, **11(2)**:442-5.

- IDREES M., REHMA H., RAFIQUE S., REHMAN I., AFZAL S. (2013). Okült Hepatit C Virüs Enfeksiyonu: Anti-HCV ve Serum HCV-RNA'si Negatif Hastalarda HCV-RNA Saptanması ve Genotipleme PAKİSTAN. *Viral Hepatit Dergisi*, 19 (Özel Sayı 1); 1-20 / *Viral Hepatitis Journal* 2013: **19** (Supplement 1); 1-20
- KARACA C., CAKALOGLU Y., DEMİR K. et al. (2006). Risk factors for the transmission of hepatitis C virus infection in the Turkish population. *Dig Dis Sci.*, **51(2)**: 365-9.
- KARATAYLI Ö.S., BOZDAYI M. (2010). Hepatit C virüs genotipleri ve subtipleri, tanısı. *Türkiye Klinikleri. J Gastroenterohepatol*, **3(1)**:70-6.
- KARMOCHKINE M., CARRAT F., DOS SANTOS O., CACOUB P., RAGUIN G. (2006). A case-control study of risk factors for hepatitis C infection in patients with unexplained routes of infection. *J Viral Hepat*, **13(11)**: 775-82.
- KAZMIERCZAK J., PAWELCZYK A., CORTES KC., RADKOWSKI M. (2013). Seronegative Hepatitis C Virus Infection. *Arch. Immunol. Ther. Exp*
- KEYVANI H, FAZLALIPOUR M., MONAVARI SH R., MOLLAIE H R. (2012). Hepatitis C Virus - Proteins, Diagnosis, Treatment and New Approaches for Vaccine Development. *Asian Pacific J Cancer Prev Rev*, **13**: 5917-5935.
- KURT H., BATTAL I., MEMİKOĞLU O., YEŞİLKAYA A., TEKELİ E. (2003). Ankara bölgesinde sağlıklı bireylerde HAV, HBV ve HCV seroprevalansının yaşa ve cinsiyete göre dağılımı. *Viral Hepatit Derg.*, **8(2)**: 88-96.
- KURTZ J.B., BOXALL E., QUSIR N., SHIRLEY J., COLEMAN D., CHANDLER C. (2011). The diagnostic significance of an assay for 'total' hepatitis C core antigen. *J Virol Meth*, **96**: 127–132.
- LANGE CM., ZEUZEM S. (2011). IL28B single nucleotide polymorphisms in the treatment of hepatitis C. *J of Hepatol.*, **55(3)**: 692–701.
- LAUER GM., WALKER BD. (2001). Hepatitis C virüs infection. *N Engl J Med*, **345**: 41-52.
- LAVANCHY D. (2009). The global burden of hepatitis C. *Liver Int.*, **29** (Suppl 19): 74-81.
- LERAT H., HOLLINGER FB. (2004). Hepatitis C virus (HCV) occult infection or occult HCV-RNA detection. *J Infect Dis*, **189**: 3–6.
- LEONARD B. (2009). Seeff. The history of the natural history of hepatitis C (1968-2009). *Liver International*, **29(1)**: 89–9.
- LINDENBACH BD., RICE CM. (2005). Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature*. **436**: 933-8
- MANDELL GL., DOUGLAS RG., BENNETT JE., DOLIN R. (2000). Chronic hepatitis C. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth edition volume 1, 1307-1331.

- MANNS MP., MCHUTCHINSON JG., GORDON SC et al. (2001). Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial, *Lancet* ;358(9286):958-65. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06102-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06102-5)
- MASSARD J., RATZIU V., THABUT D., et al. (2006). Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol.*, **44**: S19 - S24.
- MAUSS S., BERG T., ROCKSTROH J., SARRAZIN C., WEDEMEYER H., WASMUTH CS. (2009). Hepatitis C - epidemiology, transmission and natural history. *Hepatol*, **3**:37-41.
- MCGARVEY JM., HOUGHTON M. (2005). Structure and molecular virology. In: Howard C. Thomas, Stanley L, Zuckerman AJ (eds), *Viral Hepatitis* (3th ed) Blackwell Publishing, Oxford 2005, pp. 382-406.
- MC MULLAN LK., GRAKOU I., EVANS MJ., et al. (2007). Evidence for a functional RNA element in the hepatitis C virus core gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104:2879-84.
- MISTIK R. (2007). Ülkemizde kronik viral hepatitlerin epidemiyolojisi. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı, ss. 61-3.
- MYRMEL H., ULVESTAD E., ASJO B. (2009). The hepatitis C virus enigma. *APMIS*, **117**(5-6):427-39.
- NAKANO I., FUKUDA Y., KATANO Y., et al. (2001). Interferon responsiveness in patients infected with hepatitis C virus 1b differs depending on viral subtype. *Gut*, **49**: 263 - 267.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE STATEMENT: Management of Hepatitis C, *Hepatology* 2002;36(5 Suppl.1):S3-20. <http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2002.37117> PMID:12407572
- NICOT F., KAMAR N., ROSTAING L., IZOPET J. (2011). Occult Hepatitis C Virus Infection: Where are we now? *Liver Biopsy in Modern Medicine*, 307-334
- NOLTE FS. (2001). Hepatitis C Virus Genotyping: Clinical Implications and Methods, **6**:265-277.
- OHISHI W., KITAMOTO M., AIKATA H., et al. (2003). Impact of aging on the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection in Japan. *Scand J Gastroenterol*, **38**: 894-900.
- ÖKTEN A. (2003) Türkiye’de kronik hepatit, siroz ve hepatoselluler karsinoma etiyolojisi. *Güncel Gastroenterol.*, **7**(3): 187-91.
- ÖZARAS R. (2007). Kronik hepatitlerde immünopatogenez. *Oben matbaası, Viral hepatitler*, s: 304-305.
- PARDO M., LOPEZ AJM., CASTILLO I. et al. (2006). Effect of anti-viral therapy for occult hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther*, **23**:1153-9.

- PARDO M., LOPEZ AJM., RODRIGUEZ IE., CASTILLO I., CARRENO V. (2007) Comparative study between occult hepatitis C virus infection and chronic hepatitis C. *J Virol Hepat*, **14**:36-40.
- PAWLOTSKY JM. (2002). Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology*, **122**: 1554 – 1568
- PHAM TNQ., MACPARLAND SA., MULROONEY PM., COOKSLEY H., NAOUMOV NV. (2004). Hepatitis C virus persistence after spontaneous or treatment induced resolution of hepatitis C. *J Virol*, **78**:5867-74.
- PHAM T NQ., MICHALAK T I. (2008). Occult persistence and lymphotropism of hepatitis C virus infection *World J Gastroenterol*, **14(18)**: 2789-2793
- PHAM TNQ., COFFIN CS., MICHALAK TI. (2010). Occult hepatitis C virus infection: what does it mean? *Liver Int*, **30**:502-11.
- PHAM TNQ., MICHALAK T I. (2011). Occult Hepatitis C Virus Infection and Its Relevance in Clinical Practice. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* December, **1**: 185–189
- POYNARD T., YUEN MF., RATZIU V., LAI CL. (2003). Viral hepatitis C. *Lancet*, **362**: 2095-3100.
- POWELL EE, EDWARDS-SMITH CJ, HAY JL, et al. (2000). Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology*, **31**: 828-33.
- PUOTI C., CASTELLACCIR., MONTAGNESE F., et al.(2002). Histological and virological features and follow-up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: The Italian prospective study of the asymptomatic C carriers (ISACC). *J Hepatol* , **37**: 117-23.
- RADKOWSKI M., GALLEGOS-OROZCO JF., JABLONSKA J., et al. (2005). Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology*, **41**:106-114.
- REHERMANN B. (2005). Hepatitis C. Why most people don't recover. Acute and chronic liver diseases: Immunologic mechanisms and therapy. *AASLD Postgraduate Course*,58-63.
- REIMER J., LORENZEN J., BAETZ B., FISCHER B., REHM J., HAASEN C., BACKMUND M. (2007). Multiple viral hepatitis in injection drug users and associated risk factors. *J Gastroenterol Hepatol*, **22**:80-5.
- RUHWALD M., ANDERSEN ES., CHRISTENSEN PB., MOESSNER BK., WEIS N. (2012). IP-10 Can Be Measured in Dried Plasma Spots in Patients with Chronic Hepatitis C Infection. *PLoS One*, **7(9)**: e45181.
- SAKAI A ST., CLAIRE M., FAULK K., et al. (2003). The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype specific sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**:11646-51.
- SAYINER A., ABACIOĞLU H., ERENŞOY S. (2010) Hepatit Tanısında karşılaşılan Sorunlar.6. Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi,114-125.

- SEEFF LB. (2005). Natural history of hepatitis C. *Hepatology Rev*, **2**: 88-96.
- SERDENGEÇTİ K., SÜLEYMANLAR G., SEYAHİ N., ALTIPARMAK MR. (2010). Türkiye 2009 yılı ulusal hemodiyaliz, transplantasyon ve nefroloji kayıt sistemi raporu 2009 (1.baskı) Türk Nefroloji Derneği Yayınları, Metris Matbaası, İstanbul.
- SEVİNDİK E., ABACI ZT. (2013). Nested PCR ve kullanım alanları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* **6 (2)**: 22-26, 2013
- SHARMA AD., SREERAM G., ERB T., GROCOTT HP., SLAUGHTER TF. (2000). Leukocytereduced blood transfusions: perioperative indications, adverse effects, and cost analysis. *Anesth Analg*, **90**: 1315-23.
- SHEPARD CW., FINELLI L., ALTER MJ. (2005). Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis.*, **5(9)**: 558-67.
- SIMMONDS DB., WRIGHT T., THOMAS DL. AND SEEFF LB. (2004). AASLD Practice Guidelines: Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. *Hepatol* , **39**: 1147 - 1171.
- SIMMONDS P., BUKH J., COMBET C., et al. (2005). Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, **42**:962-73.
- STATTERMAYER AF., STAUBER R., HOFER H. et al. (2011). Impact of IL28B genotype on the early and sustained virologic response in treatment naive patients with chronic hepatitis C, *Clin Gastroenterol Hepatol*, **9(4)**:344-50. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2010.07.019> PMID:20728570
- STRADER DB., WRIGHT T., THOMAS DL., SEEFF LB. (2004). American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*, **39**: 1147-71.
- SY T, JAMAL MM. (2006). Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci*, **3(2)**: 41-6.
- TAHAN V., KALAYCI C. (2007). Kronik Hepatit C Güncel Tedavisi. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, ss. 246 – 254.
- TAGIURI NI., MCCLURE P., RYDER SD., IRVING WL. (2008). Occult hepatitis C infection in patients with histological hepatitis and negative serum PCR for HCV. *J Hepatol*, **44(2)**:157
- TANG H., GRISE H. (2009). Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. *Clin Sci*, **117(2)**:49-65.
- TERRAULT NA., BUSCH M., MURPHY E. (2003). Sexual transmission of hepatitis C virus in heterosexual monogamous couples-the HCV partners study. *Hepatology*, **38**:183A.
- THOMAS DL., RAY SC., LEMON SM. (2005). Hepatitis C. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and practice of infectious diseases* (6th ed). Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, pp. 1950–81.

- THOMAS DL., THIO CL., MARTIN MP. et al. (2009). Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus, *Nature*, **461(7265)**:798-801.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature08463> PMID:19759533 PMCID:3172006
- THOMAS DL., RAY SC. (2010). Hepatitis C. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds); Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th edition, Philadelphia, Churchill Livingstone, 2157-86.
- THONGSAWAT S., MANEEKARN N., KUNIHOLM M., et al. (2008). Occult hepatitis C virus infection during an outbreak in a hemodialysis unit in Thailand. *J Med Virol*, **80**:805-15
- TOSUN S. (2013). Viral Hepatitlerin Ülkemizdeki Değişen Epidemiyolojisi. *ANKEM Derg*, **27(Ek 2)**:128-134
- TURUNÇ T., SEZGİN UNCU H., DEMİROĞLU Z., ARSLAN H. (2003). Kan Donörlerinde HBV ve HCV Prevalansı: *Viral Hepatit Derg*. **8(3)**: 166-170
- TÜRKOĞLU S. (2003). Hepatit C virüsü: Viroloji ve seroloji. *Viral Hepatit 2003. Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 186 - 198.
- TÜRKOĞLU S. (2007). HCV enfeksiyonunun epidemiyolojisi ve serolojisi. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E (eds), *Viral hepatit 2007 (1.baskı) Viral Hepatitle Savaşım Derneği. Oban Matbaası, İstanbul*, ss. 208-19.
- UpToDate Diagnosis and treatment of acute hepatitis C in adults.
http://www.uptodate.com/contents/diagnosis-and-treatment-of-acute-hepatitis-c-in-adults?source=search_result&search=Diagnosis+and+treatment+of+acute+hepatitis+C+in+Adults&selectedTitle=1%7E150.
- USTAÇELEBİ S., ERGÜNAY K. (2004). Hepatit C Virusu. Ustaçelebi S, Abacıoğlu H, Badur S (eds). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Güneş Kitabevi*, ss. 203-209.
- VHSD (2011) III. Viral Hepatit Tanı ve Tedavi rehberi. *Viral Hepatit Dergisi*, 2011; **17(3)**: 117-126
- YILDIRIM B., TAHAN V., OZARAS R., et al. (2005). Hepatitis C virus risk factors in the Turkish community. *Dig Dis Sci.*, **50(12)**: 2352-5
- ZAGHLOUL H., EL-SHERBINY W. (2010). Detection of occult hepatitis C and hepatitis B virus infections from peripheral blood mononuclear cells. *Immunol Invest*, **39**:284-91.
- ZHOU D., FAN X., TAN D., XU Y., TAVIS JE., DI BISCEGLIE AM. (2007). Separation of near full-length hepatitis C virus quasispecies variants from a complex population. *J Virol Methods*, **141**:220-224.
- WAKITA T., PIETSCHMANN T., KATO T., et al. (2005). Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nature Med.*, **11**:791-6