



Hemodiyaliz Hastalarında HGV-RNA ve TTV-DNA Sıklığının Araştırılması

İlhan AFŞAR¹, Mehmet TANRISEV², Aşlı Gamze ŞENER¹, Metin TÜRKER¹, Mustafa CİRİT²

¹Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı,

²Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nefroloji Kliniği, İZMİR

ÖZET

Hemodiyalize giren hastalar kan yoluyla geçen viral etkenlerin neden olduğu karaciğer enfeksiyonu riski taşır. Epidemiyolojik çalışmalar, viral hepatitle ilişkisi tam olarak açıklanamasa da hepatit G virüsü (HGV)'nün hemodiyalizli hastalarda artmış bir insidansı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, son zamanlarda etyolojisi bilinmeyen akut hepatit etkeni olabileceği düşünülen transfüzyona bağlı bir DNA virüsü "transfusion transmitted virus (TTV)" tanımlanmıştır. Bu çalışmada, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniğinde takip edilen ve herhangi bir sebepten dolayı hemodiyalize giren HBsAg ve antihepatit C virüsü (HCV) negatif 71 hastanın serumlarında HGV-RNA ve TTV-DNA real time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile araştırıldı. Toplam 71 hastanın 56 (%78.8)'sında TTV-DNA pozitif, 1 (%1.4)'inde HGV-RNA pozitif olarak saptandı.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz hastaları, HGV-RNA, TTV-DNA.

SUMMARY

Investigation of HGV-RNA and TTV-DNA Frequency in Hemodialysis Patients

Hemodialysis patients are under risk for viral liver infections which are transmitted parenterally. Although the association between the hepatitis G virus (HGV) and viral hepatitis could have not been explained exactly, the epidemiologic studies show that the HGV has an increased incidence in hemodialysis patients. Also "Transfusion Transmitted Virus" -a DNA virus- which is considered to be one of the causative agents in acute hepatitis in which the etiology is not known has been identified lately. In this study, HGV-RNA and TTV-DNA were investigated in serum samples of 71 hemodialysis patients who were negative for HBsAg and anti-HCV by real time (RT) polymerase chain reaction (PCR) amplification method. Of the total 71 patients, 56 (78.8%) were found to be positive for TTV-DNA and 1 (1.4%) for HGV-RNA.

Key Words: Hemodialysis patients, HGV-RNA, TTV-DNA.



GİRİŞ

Hemodiyalize giren hastalar kan yoluyla geçen viral etkenlerin neden olduğu karaciğer infeksiyonu riski taşır (1). Bu grup hastalarda hepatit virüsü prevalansı genel popülasyona göre daha yüksektir. Bu durum kan transfüzyonuna bağlanmaktadır, özellikle 1990 yılı öncesi diyaliz ünitelerinde transfüzyon yapılanlarda nozokomiyal geçiş önemlidir (2). Günümüzde hemodiyaliz hastalarında en fazla hepatit C virüsü (HCV)'ne bağlı viral hepatit görülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, hepatit G virüsü (HGV)'nün hemodiyaliz hastalarında artmış bir insidansı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, son zamanlarda etyolojisi bilinmeyen akut hepatit etkeni olabileceği düşünülen transfüzyona bağlı bir DNA virüsü "transfüzyon transmitted virus (TTV)" tanımlanmıştır (1).

Hemodiyalize giren hastalarda hepatit B virüsü (HBV) ve HCV'ye bağlı infeksiyon insidansı eski yıllara göre azalmıştır. Bu durum, virüs tarama testlerinin gelişmesi ve hemodiyaliz hastalarında kan transfüzyonu yerine eritropoetin kullanılmasına bağlanmaktadır. Günümüzde yine de yüksek oranda hepatit olgularının görülmesi rutin tarama testlerinde saptanamayan HGV ve TTV gibi virüsleri akla getirebilir (2).

Çalışmamızda, HBsAg ve anti-HCV negatif hemodiyaliz hastalarında HGV-RNA ve TTV-DNA sıklığının araştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nefroloji Kliniğinde takip edilen ve herhangi sebepten dolayı hemodiyalize giren HBsAg ve anti-HCV negatif 71 hastanın serumlarında HGV-RNA ve TTV-DNA araştırıldı.

HGV ve TTV nükleik asit analizi real time (RT) polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) prensibi ile HGV

ve TTV kantitasyon kiti (Roboscreen, Almanya) ve ABI Prism 7700 (Applied Biosystems, Foster City, CA) ile nükleik asit çoğaltması yapılarak saptandı. HBV ve HCV ile infekte olmayan 71 hastanın ne kadar süredir diyalize girdiği ve kan transfüzyonu yapıp yapılmadığı sorgulandı.

Ekstraksiyon

Daha önce serumları alınıp -80°C'de saklanan örnekler oda sıcaklığında çözündürüldü ve vorteksleildi. 200 µL hasta serumu RoboGene® kit (Roboscreen, Almanya) ekstraksiyon kiti kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda yapıldı.

RT-PCR

PCR karışımları mikst, "forward primer", "revers primer" ve "TaqMan prob" karışımından 20 µL ve 5 µL ekstraksiyon ürünü hazırlanarak ısı döngüsünde (ABI Prism 7700: Applied Biosystems, Foster City, CA) ile çoğaltma yapıldı. Pozitif kontrol olarak her ikisi için de 10⁵ ve 10⁴ kopya/mL standart kullanıldı. Her çalışmada iki adet negatif kontrol olarak "PCR grade water" kullanılarak, sonuçlar kalitatif olarak değerlendirildi. İstatistiksel işlemlerde ki-kare testi uygulandı. İstatistiksel analizler SPSS (for Windows 10.0) programı ile yapıldı.

BULGULAR

Toplam 71 hastanın; 41 (%57.7) erkek ve 30 (%42.2) kadından oluşan çalışma grubunun, 56 (%78.8)'sında TTV-DNA pozitif, 1 (%1.4)'inde HGV-RNA pozitif olarak saptandı. Hastaların 18 (%25.3)'i bir yıldan daha uzun süredir diyalize girmekte olup, diğer 53 hastaya yeni tanı konup diyalize başlanan ya da bir yıldan daha az süredir diyalize girmekte olan hastalardı. İstatistiksel hesaplamalarda TTV-DNA ve HGV-RNA açısından cinsiyet, diyaliz süresi ve HGV-RNA'nın transfüzyon uygulanması yönünden anlamlı sonuç alın-

Tablo 1. Hastaların özellikleri ve TTV-DNA pozitifliği.

	Erkek (n= 41)	Kadın (n= 30)	Diyaliz süresi		Kan transfüzyonu	
			< 1 yıl (n= 53)	> 1 yıl (n= 18)	Var (n= 57)	Yok (n= 14)
TTV-DNA pozitif	33	23	44	12	46	10
TTV-DNA negatif	8	7	9	6	11	4
p	0.773		0.184		0.031	

p< 0.005: Anlamlı.

Tablo 2. Hastaların özellikleri ve HGV-RNA pozitifliği.

	Erkek (n= 41)	Kadın (n= 30)	Diyaliz süresi		Kan transfüzyonu	
			< 1 yıl (n= 53)	> 1 yıl (n= 18)	Var (n= 57)	Yok (n= 14)
HGV-RNA pozitif	0	1	1	0	1	0
HGV-RNA negatif	41	29	52	18	56	14
p	0.423		1.000		1.000	

p< 0.005: Anlamlı.

mamıştır (p> 0.005). TTV-DNA araştırılan hastalarda kan transfüzyonu açısından anlamlı sonuç alınmıştır (p< 0.005).

Bu hastaların cinsiyet dağılımı, diyaliz süresi ve kan transfüzyonu olup olmadığı ile ilgili bilgiler Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

HGV'nin karaciğer hastalıklarındaki etyolojik rolü halen tartışmalıdır. Transfüzyon sonrası hepatitlerde HGV'nin hepatit yapabileceğini gösteren çalışmalarda infeksiyonlar hafif seyirlidir. Altı-sekiz haftalık transaminaz ve viremi dönemi yıllarca sürebilir ve HGV-RNA düzeyleri saptanabilir. TTV'nin ise sağlıklı kişilerde ve kan donörlerinde yüksek oranlarda bulunması asemptomatik virüs taşıyıcılığını gösterir (3).

Uzun süreli transaminaz yükseklikleri durumunda transfüzyon öncesi, diyaliz öncesi ve açıklanamayan hepatit olgularında HGV-RNA ve TTV-DNA bakışı önem taşımaktadır. Yeni isimlendirilen bu iki virüs üzerine araştırmalar sürmektedir.

Özellikle hemodiyaliz hastaları risk grubunu oluşturduğu için bu konuda ülkemizde ve diğer ülkelerde bir çok çalışma yapılmıştır. Ülkemizde bu grup hastalarda, HGV araştırması yapılan çalışmalarda HGV pozitifliğini Altındiş ve arkadaşları %20, Hızel ve arkadaşları %25.5, Hafta ve arkadaşları %21.1, Günaydın ve arkadaşları %34.4, Uyanık %7.1, Üstündağ ve arkadaşları %31.1, Mas ve arkadaşları ise %1.8 olarak saptamışlardır (4-10).

Hemodiyaliz hastalarının yurt dışı çalışmalardaki örneklerinde ise; Lopez ve arkadaşları %15.5, Loureiro ve arkadaşları %9, Huang ve arkadaşları %8.8, Abraham ve arkadaşları %58.6, Dai ve arkadaşları %14.1, Hinriksen ve arkadaşları ise Almanya'da yaptıkları çalışmada %19.6 oranında HGV-RNA pozitifliği saptamışlardır (2,11-15).

Görüldüğü gibi ülkemizdeki ve yurt dışındaki çalışmalarda HGV prevalansı farklılıklar göstermektedir. Yapılan çalışmalarda alınan hasta sayısı genelde 200'ün altında olmuştur. Sağlıklı veriler için hasta sayısı artırılmalıdır. Almanya'da genel popülasyonda %2 oranında HGV-RNA saptanırken, 2796 hemodiyaliz hastasında yapılan çalışmada oranın hemodiyaliz hastalarında 10 kat (%19.6) fazla olması istatistiksel anlam ortaya koymuştur (15). Çalışmamızda bir hastada (%1.7) HGV-RNA saptanmasının prevalans açısından daha geniş serilerle desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda HGV-RNA prevalansının %1.4 olmasına karşın TTV-DNA oranının %78.8 olması iki viral etken arasında anlamlı bir farkı ortaya çıkarmıştır. Ülkemizdeki prevalans çalışmalarında HGV'de olduğu gibi TTV'de de farklı sonuçlar ortaya konmuştur. 2002 yılında İzmir'de Erensoy ve arkadaşları %75 oranında TTV-DNA pozitifliği saptamışlardır (16). Altındiş ve arkadaşları %20 gibi daha düşük bir oranı Afyon'da saptamışlardır (4). İtalya'da Campo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 78 hemodiyaliz hastasının 15 (%19.2)'inde TTV-DNA saptanmıştır (1). Yine İspanya'da Lopez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 45 hemodiyaliz hastasının 26 (%57.7)'sında TTV-DNA saptanmıştır (2). Abraham ve arkadaşları Hindistan'da yaptıkları çalışmada %32.9 oranında, Tayvan'da 85 hastada yapılan çalışmada %54.1, Japonya'da Tanaka ve arkadaşları %29.5 oranında TTV-DNA saptamışlardır (13,14,17).

Görüldüğü gibi hemodiyaliz hastalarında hem HGV hem de TTV sıklığı ile ilgili ülkemizde ve yurt dışında çalışmalar yapılmış ve farklı sonuçlar alınmıştır. Çalışmalar genelde sınırlı sayıda hastayla yapılmıştır. Ayrıca, araştırmacıların kullandığı "primer"ların farklı olması testlerin duyarlılıklarını etkilemiş olabilir. Çalışmalarda optimal



şartlar sağlanamamış olsa bile her iki virüsün hemodiyaliz hastalarında daha fazla oranda olduğu araştırmacılar tarafından öne sürülmektedir.

Sonuç olarak; HGV ve TTV için optimal primer ile daha fazla sayıda hastayı kapsayan çalışmalar, bu iki virüsün prevalansını, klinik ve patolojik etkilerini bilmemize yardım edecektir.

KAYNAKLAR

1. Campo N, Brizzolara R, Sinelli N, et al. TT virus infection in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1823-6.
2. Lopez-Alcorocho JM, Barril G, Ortiz-Movilla N, et al. Prevalence of hepatitis B, hepatitis C, GB virus C/hepatitis G and TT viruses in predialysis and hemodialysis patients. *J Med Virol* 2001; 63: 103-7.
3. Köksal İ. GB virüsleri mikrobiyolojisi, epidemiyoloji, klinik tedavi ve korunma ve TT virüsü. *Usluer G (editör). A'dan Z'ye Akut Viral Hepatitler. Modern Tıp Seminerleri*, 2002; 22; 52-7.
4. Altindis M, Aktepe OC, Cetinkaya Z, Ozdemir M. TT virus and hepatitis G virus in different risk groups in Afyon. *Mikrobiyol Bul* 2004; 38: 61-7.
5. Hızel N, Boyacıoğlu S, Tunçbilek S ve ark. Hemodiyaliz hastalarında hepatit G virus enfeksiyon prevalansı ve bunun HCV-RNA ile ilişkisi. II. Ulusal Hepatoloji Kongresi, 5-7 Haziran 1997, İstanbul. *Bildiri Kitapçığı. Poster No:22*.
6. Hafta A, Akız H, Yarkin F ve ark. Hemodiyaliz hastalarında GBV-C insidansı. II. Ulusal Hepatoloji Kongresi 5-7 Haziran 1997, İstanbul. *Bildiri Kitapçığı. Poster No:189*.
7. Gunaydin M, Bedir A, Akpolat T, et al. Prevalence of serum HGV-RNA among hemodialysis patients in Turkey. *Infection* 1997; 25: 307-9.
8. Uyanık U. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) yöntemi kullanarak hemodiyaliz hastalarında Hepatit G virus (HGV) RNA sıklığının araştırılması. *Uzmanlık tezi. Ankara, 1997*.
9. Üstündağ Y, Arslan H, Hızel N, Boyacıoğlu S, Özdemir N. Hemodiyaliz hastalarında hepatit G/GB virus-C enfeksiyonu. *Viral Hepatit Dergisi* 2001; 7: 400-4.
10. Mass R, Sağlamkaya U, Kubar A, et al. Hepatitis G virüsü infection among patients undergoing hemodialysis. *Gut* 1997; 41(Suppl 3): A130.
11. Loureiro CL, Alonso R, Pacheco BA, et al. High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus genotype 3 among autochthonous Venezuelan populations. *J Med Virol* 2002; 68: 357-62.
12. Huang JJ, Lee WC, Ruaan MK, Wang MC, Chang TT, Young KC. Incidence, transmission, and clinical significance of hepatitis G virus infection in hemodialysis patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 374-9.
13. Abraham P, John GT, Raghuraman S, et al. GB virus C/hepatitis G virus and TT virus infections among high risk renal transplant recipients in India. *J Clin Virol* 2003; 28: 59-69.
14. Dai CY, Yu ML, Chuang WL, et al. Epidemiology and clinical significance of chronic hepatitis-related viruses infection in hemodialysis patients from Taiwan. *Nephron* 2002; 90: 148-53.
15. Hinrichsen H, Leimenstoll G, Stegen G, Schrader H, Folsch UR, Schmidt WE; PHV Study Group. Prevalence of and risk factors for hepatitis G (HGV) infection in haemodialysis patients: A multicentre study. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 271-5.
16. Erensoy S, Sayiner AA, Turkoglu S, et al. TT virus infection and genotype distribution in blood donors and a group of patients from Turkey. *Infection* 2002; 30: 299-302.
17. Tanaka H, Miyano M, Yukawa S. Detection of TT virus (TTV) in Japanese hemodialysis (HD) patients. *Nippon Rinsho* 1999; 57: 1410-2.

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. İlhan AFŞAR

Atatürk Eğitim ve

Araştırma Hastanesi

Mikrobiyoloji ve

Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı

İZMİR