

Araştırma

Isparta Yöresinde SEN Virus Sıklığı

Canan DEMİR¹, Füsün Zeynep AKÇAM¹, Selçuk KAYA², Onur KAYA¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları AD

²Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji AD, ISPARTA

ÖZET

Akut ve kronik hepatitli hastaların bir kısmında bilinen hepatit virüsleri tespit edilememekte olup bu hepatitler non-A non-E hepatit olarak sınıflandırılmaktadır. Non-A non-E hepatit etkenleri konusu üzerine araştırmalar devam etmektedir. SEN virus (SENV) bu çalışmalar esnasında tanımlanmış bir DNA virüsü olup çeşitli bölge ve gruplarda farklı sıklıklarda bildirilmiştir. Genel olarak parenteral bulaş riski yüksek olan popülasyonlarda yüksek, kan donörlerinde ise düşük prevalansta saptanmıştır.

Bu çalışmada Isparta bölgesinde kan donörlerinde ve hemodiyaliz hastalarında SENV prevalansının tespiti amaçlandı. 250 kan donörü ve 30 hemodiyaliz hastası çalışma kapsamına alındı. SENV varlığı PZR (BioBasic®) yöntemi ile serumda SENV DNA araştırılarak belirlendi kan donörlerinin hiçbirinde SENV DNA pozitifliği saptanamadı. Hemodializ hastası olan gruptaki pozitiflik oranı (%10), kan donörlerinden anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0.05$).

SENV'nin hepatit etiolojisindeki rolü ve gerçek sıklığının belirlenmesi amacıyla daha geniş topluluklarda araştırma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatit, SEN virus, kan donörü, hemodiyaliz, PZR

SUMMARY

The prevalence of SEN virus in Isparta region

In some of the acute and chronic hepatitis patients, the known types of hepatitis viruses are not detected and these incidents are classified as non-A non-E hepatitis. The researches on non-A non-E hepatitis are still in progress. The SEN virus is a DNA virus which has been characterized during these studies, and has been reported with varying frequencies in various regions and groups. Generally, it has been reported with a high prevalence in populations with a high risk of parenteral contamination, and with a low prevalence in blood donors.

In this study, we aim to determine the SENV prevalence among blood donors and hemodialysis in patients in Isparta region. 250 blood donors and 30 hemodialysis patients were included in the study. The presence of SENV was determined by analyzing the serum for SENV DNA using the PCR (BioBasic®) method. None of the blood donors tested positive for SENV DNA. The positivity ratios of hemodialysis patients (10%) were found to be significantly higher compared to the ratios of blood donors ($p < 0.05$).

In order to determine the role of SENV in hepatitis etiology and the actual frequency, large scale population studies should be performed.

Keywords: Hepatitis, SEN virus, blood donor, haemodialysis, PCR.

GİRİŞ

Dünyada viral hepatitlerin %80'den fazlası 5 virus tarafından meydana getirilmektedir. Bunlar; hepatit A (HAV), hepatit B (HBV), hepatit C (HCV), hepatit D (HDV) ve hepatit E (HEV) viruslarıdır. Akut hepatit, kronik hepatit ve siroz olgularının yaklaşık %20'sinde etken olarak yukarıda bahsedilen virüsler saptanamamaktadır. Non-A non-E (NANE) olarak adlandırılan bu hepatitlerden sorumlu olabileceği ileri sürülen etkenler ise son yıllarda keşfedilen hepatit G virus (HGV), transfusion transmitted virus (TTV), TT benzeri mini virus (TTV like mini virus-TLMV), SANBAN virus, YONBAN virus, TUS01, PMV ve SEN viruslarıdır (1).

İlk defa 1999 yılında Dr. *Danielle Primi* liderliğindeki İtalyan araştırmacılar intravenöz ilaç bağımlısı HIV ile enfekte ve nedeni bilinmeyen post transfüzyon hepatitli bir hastanın serumunda yeni bir virus izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu virusa hastanın adının baş harfleri olan SEN adını vermişlerdir (2, 3). SEN virus (SENV) tek sarmallı, helikal yapıya zarfsız, *Circoviridae* familyasından bir DNA virusudur. TTV ile yakın benzerlik göstermektedir. SENV yapısal olarak TTV'ye benzemekte ancak TTV ile SENV arasında en fazla %55'e kadar sekans, %37'e kadar da aminoasit homolojisi bulunmaktadır (3). SENV birçok ülkede araştırmalara konu olmuş ve değişik oranlarda prevalanslar bildirilmiştir (4, 5).

Çalışmamızda bölgemizde parenteral bulaş açısından riskli bir grup olan hemodiyaliz hastaları ile sağlıklı kan donörlerinde SENV prevalansının saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmaya, Mayıs 2007-Ağustos 2007 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi kan bankasına başvuran, HBsAg, Anti-HIV, Anti-HCV negatif 250 kan donörü ve aynı dönemde Devlet Hastanesi Hemodializ ünitesinden hizmet alan HBsAg, Anti-HIV, Anti-HCV negatif 30 hemodiyaliz hastası alındı.

Alınan kan örnekleri bekletilmeden serumlar ayrılarak steril eppendorf tüplerine konuldu. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çalışılacağı kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı. Çalışma basamakları aşağıdaki sırayla gerçekleştirildi:

1. Viral DNA eldesi: *blood genomic DNA minipreps kit* (EZ-10®) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi.

2. PZR ile çoğaltma: Aşağıdaki primerler (BIO BASIC®) kullanılarak SEN virus DNA'sı *Multicolor real time detection* sistemde (BIO-RAD IQ5®) çoğaltıldı.
 - a) Sensprimer: AI-1F (sequence5'-3'):TWC YCMAACgAC CAg CTA qAC CT.
 - b) Antisensprimer: AI-1R (sequence5'-3'): gTTTgT ggT gAg CAg AAC gg.
3. Çoğaltılan ürünler %2'lik jel elektroforez ile saptandılar.
4. Değerlendirme: Pozitif değerlendirilen numunelerde ethidium bromidin DNA'yı boyayarak işaretlemesi sonucu transilluminatörde değerlendirilen jeldeki ışınma standart DNA eşliğinde değerlendirildi. Negatif değerlendirilen numunelerde jelde bir ışınma gözlenmedi.

İstatistiksel analiz: İki grup arasındaki farklar istatistiksel olarak ki-kare testiyle karşılaştırıldı. (p <0.05) olması üzerine istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kan donörlerinden oluşan grubun 110'u (%44) kadın 140'ı (%66) erkekti ve yaş ortalamaları 34.9±8.3 yıl, ortanca 34.0 (yaş dağılımı 20 ile 57 arasında) idi. Hemodiyaliz hastaları ise yaş ortalaması 41.8±15.6 yıl, ortanca 37.5 (yaş dağılımı 19 ile 72 arasında) olan 20 (%66) kadın ve 10 (%33) erkekten oluşmakta idi. SENV DNA'sı hemodiyaliz hastalarının 3'ünde (%10) pozitif bulunurken kan donörlerinin hiçbirinde SENV DNA'sı tespit edilemedi. Hemodiyaliz hastaları ile kan donörleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p <0.05).

SENV, *Circoviridae* ailesinden bir DNA virusu olup sekiz farklı genotipi tanımlanmıştır (A-H). SENV D ve SENV H genotipleri diğerlerine oranla transfüzyonla ilişkili NANE hepatitlerinde daha sık, buna karşılık sağlıklı popülasyonda ve kan donörlerinde daha nadir görülmektedir. Çoklu transfüzyon yapılan hastalarda, intravenöz ilaç bağımlılarında, hemodiyaliz hastaları gibi parenteral bulaş riski fazla olan hastalarda daha yaygın olarak bulunmuştur (2). HBV ve HCV ile SENV D ve SENV H koenfeksiyonuna sık rastlanmaktadır (3). HBV veya HCV'li olgulardaki SENV koenfeksiyon prevalansı sağlıklı bireylerdeki SENV prevalansına göre anlamlı derecede yüksek bulunması, virusun HBV veya HCV ile benzer bulaş

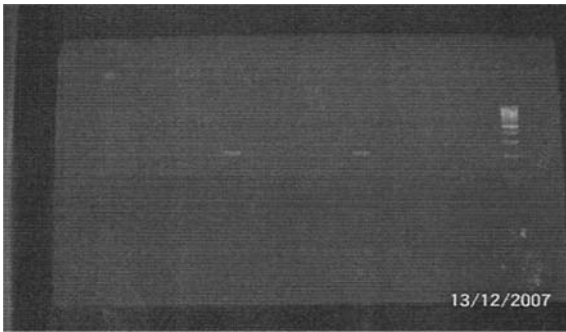
yollarını kullanması sonucu olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda HBsAg, Anti-HIV, Anti-HCV negatif olan intravenöz ilaç bağımlılığı ve mesleki riski olmayan 250 kan donörünün hiçbirinde SENV DNA pozitifliği saptayamadık. Bu durum benzer popülasyonlarda Avrupa'da yapılan araştırmalara yakın ancak Uzak Doğunun çeşitli bölgelerindeki SENV prevalansından düşük bulunmuştur. Çeşitli ülkelerde sağlıklı popülasyon ve kan donörlerinde yapılan prevalans çalışmalarında Amerika'da %1.8, Japonya'da farklı iki çalışmada %10 ve %22, Tayvan'da %15, Almanya'da %16.8, Tayland'da %5 oranında SENV DNA pozitifliği saptanmıştır (6-10).

Bu çalışmada 30 hemodiyaliz hastasının 3'ünde (%10) SENV DNA pozitifliği saptadık. Hemodiyaliz hastaları ve sağlıklı kan donörlerinden oluşan grup karşılaştırıldığında pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$).

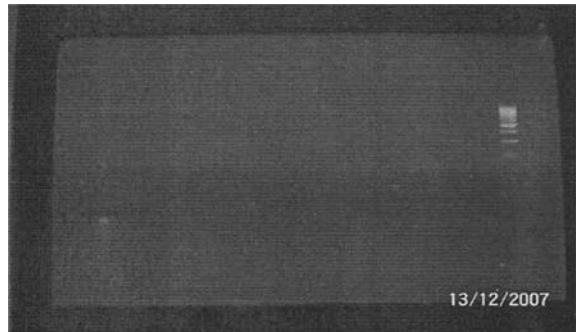
SENV prevalansı bölgesel farklılıklar gösterebilmekte ve parenteral bulaş açısından riskli gruplarda yüksek oranda görülmektedir. Ancak SENV ile non-parenteral yollarla da bulaşın olabileceği düşünülmektedir (2, 4, 11). Diyaliz hasta grubumuzdaki SENV DNA prevalansı da Tayvan (%68), Japonya (%38) ve Almanya (%12.8) gibi diğer ülkelerle karşılaştırıldığında daha düşük bulundu (7-9). Ülkemizde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında Toraman ve arkadaşlarının 89 hemodiyaliz hastasında yaptıkları çalışmalarında SENV DNA'yı %29.1 oranında bizim çalışmamızdan

yüksek oranda saptadıkları görülmektedir (12). Çalışmalardaki farklı oranlar muhtemelen bölgesel SENV DNA prevalansındaki farklılığın sonucudur. Ayrıca SENV enfeksiyon prevalansı HCV'de gösterildiği gibi hemodiyaliz üniteleri arasında, aynı ülke veya coğrafi bölge içinde bile transfüzyon pratikleri ve hijyenik standartlardaki farklılıktan dolayı anlamlı olarak değişebilir. SENV genotiplerinin enfektivitesindeki değişiklikler ve uygulanan PZR tekniklerinin duyarlılık farkları da bu değişikliğe neden olmuş olabilir. SENV'nin hepatit virusu olarak klinik anlamı halen tartışmalı olup, SENV DNA pozitifliğinin primer mi, rekürrens mi ya da re-enfeksiyon mu olduğu henüz tanımlanamamış değildir. Yapılan çalışmalarda SENV ile enfekte kişilerin viremisinin bir süre devam ettiği ve daha sonra vireminin kaybolduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızdaki hemodiyaliz hastalarında SENV prevalansının (%10), kan donörlerinden (%0) anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. Bu sonuç literatürlerdeki verilerle uyumlu olarak değerlendirildi. Kan donörlerindeki negatifliğin sebebi olarak bölgesel özellikler ve düşük riskli yaşam tarzı düşünüldü. Bununla beraber, SEN virusun hepatit etiyolojisindeki rolü ve ülkemizdeki gerçek sıklığının belirlenmesi amacıyla daha geniş topluluklarda araştırma yapılması gerektiği düşünülmektedir.



Şekil 1. Pozitif örnek



Şekil 2. Negatif örnek

KAYNAKLAR

1. Kaya O, Akçam FZ. Yeni hepatit virüsleri. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (STED) 2005; 14: 179.
2. Sagır A, Kirschberg O, Heintges T, Erhardt A, Haussinger D. SEN virus infection. Rev Med Virol 2004; 14: 141-8.
3. Tanaka Y, Primi D, Wang RY et al. Genomic and molecular evolutionary analysis of a newly identified infectious agent (SEN virus) and its relationship to the TT virus family. J Infect Dis 2001; 183: 359-67.
4. Primi D, Sottini A. Identification and characterization of SEN virus, a family of novel DNA viruses. Antiviral Therapy 2000; 5 (suppl 1): G.7.
5. Shibata M, Wang RY, Yosiba M, Shih JW, Alter HJ, Mitamura K. The presence of a newly identified infectious agent (SEN virus) in patients with liver diseases and in blood donors in Japan. J Infect Dis 2001; 184: 400-4.
6. Umemura T, Yeo AE, Sottini A, et al. SEN virus infection and its relationship to transfusion associated hepatitis. Hepatology 2001; 33: 1303-11.
7. Kao JH, Chen W, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Prevalence and implication of a newly identified infectious agent (SEN virus) in Taiwan. J Infect Dis 2002; 185: 389-92.
8. Kobayashi N, Tanaka E, Umemura T, et al. Clinical significance of SEN virus infection in patients on maintenance haemodialysis. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 348-52.
9. Schröter M, Laufs R, Zöllner B, Knödler B, Schäfer P, Feucht HH. A novel DNA virus (SEN) among patients on maintenance hemodialysis: prevalence and clinical importance. J Clin Virol 2003; 27: 69-73.
10. Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Sriponthong M. SEN virus infection in patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Thailand. J Gastroenterol 2003; 38: 142-8.
11. Pirovano S, Bellinzoni M, Ballerini C, et al. Transmission of SEN virus from mothers to their babies. J Med Virol. 2002; 66: 421-7.
12. Toraman ZA, Bulut Y, Aksoy A, Özdarendere A, Seyrek A. Hemodiyaliz hastalarında SENV D ve SENV H virüs prevalansı. III. Ulusal Moleküler ve Tamsal Mikrobiyoloji Kongresi. 28 Haziran-1 Temmuz 2004; Ankara. Bildiri kitapçığı poster No: P63 Sayfa: 216.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr. F. Zeynep AKÇAM
 Turan Mah. 2213 sokak No:4
 Mehmet Bilginer Sitesi A Blok Daire:9
 ISPARTA
 e-mail: fzeynep@med.sdu.edu.tr