

# ANTI-HCV POZİTİF HASTALARDA HCV-RNA VARLIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Selma GÖKAHMETOĞLU\*, Bilgehan AYGEN\*\*, Şebnem GÜRSOY\*\*\*, Cem ARTAN\*, Yusuf ÖZBAL\*, Tahir PATIROĞLU\*\*\*\*

## ÖZET

HCV enfeksiyonunun tanısında anti-HCV tayini yanında HCV- RNA varlığı da araştırılmaktadır. Çalışmada anti-HCV'si pozitif bulunmuş ALT ve AST değerleri belirlenmiş 189 hastanın serum örneğinde HCV-RNA düzeyleri araştırıldı. HCV-RNA düzeyleri Abi Prism 7700 Sequence Detection System (Perkin Elmer, USA) ile PCR yöntemi ile araştırıldı. Çalışmaya dahil edilen 189 hastanın 120 (% 63.5)'sinde HCV-RNA negatif, 69 (% 36.5)'unda ise pozitif bulundu. HCV-RNA pozitif 69 hastanın 33 (%48)'ünde ALT ve AST seviyeleri normal sınırlardayken, 36 (% 52)'sında yüksekti. HCV-RNA negatif olanların 49 (%41)'unun ALT ve AST seviyeleri yüksek, 71(% 59 ) 'nin ise normaldi. Sonuç olarak anti-HCV pozitifliği durumunda mutlaka HCV-RNA varlığının gösterilmesi gereklidir.

**Anahtar kelimeler:** Anti-HCV, HCV-RNA, ALT ve AST düzeyleri

## SUMMARY

### EVALUATION OF HCV-RNA IN ANTI-HCV POSITIVE PATIENTS

HCV-RNA is investigated in diagnosis of HCV infection besides anti-HCV. In this study HCV-RNA levels were investigated in 189 anti-HCV positive patients whose ALT and AST levels were determined. HCV RNA was detected by PCR with Abi Prism 7700 Sequence Detection System (Perkin Elmer, USA). When the results of the patients were examined, it was found that HCV- RNA was positive in 69 (36.5%) of them and HCV-RNA was negative in 120 (63.5%) of them. ALT and AST levels were high in 36 (52%) of HCV-RNA positive patients and ALT and AST levels were normal in 33 (48 %) of them. Fortynine (41 %) of HCV-RNA negative patients had high ALT and AST levels and 71 (59 %) of them had normal ALT and AST levels. As a conclusion HCV-RNA should be investigated undoubtedly in anti-HCV positive patients.

**Key words:** Anti-HCV, HCV-RNA, ALT and AST levels.

## Giriş

Hepatit C virusu (HCV) parenteral yolla bulaşan non A ve non B hepatitlerin en önemli etkenlerinden biridir. Akut HCV enfeksiyonlarının % 70-80'ni kronikleşmektedir. Kronikleşen olguların en az %20-30'unda siroz ve hepatosellüler kanser ortaya çıkmaktadır (1).

HCV enfeksiyonunun laboratuvar tanısı, sıklıkla HCV genomunun klonlanmasıyla elde edilen antijenlerin kullanıldığı ELISA ve RIBA (Recombinant Immunoblotting Assay) testleriyle virusa özgü antikorla ve HCV-RNA gösterilerek konmaktadır (2). Serolojik tanının duyarlılığı ve özgüllüğü anti-HCV saptayan ikinci ve üçüncü kuşak testlerle önemli ölçüde artmıştır. Ancak, enfeksiyonun erken evrelerinde hastaların seronegatif oluşu, serokonversiyonun bazı olgularda uzun sürede gerçekleşmesi, HCV antijeninin ve virus replikasyonunu gösteren serolojik testlerin olmayışı, antikor özgüllüğünün gösterilmesinin gerekmesi ve doğrulama testlerinde karşılaşılan indeterminate bulguların yorumlanmasının güçlüğü serolojik testlerin tanıdaki yerini sınırlamaktadır. Bu durumda moleküler biyolojik yöntemlerle HCV-RNA saptan-

ması ve miktarının belirlenmesi, viremide başvurabilecek en önemli teknik olduğu gibi serolojik tanıyı da doğrulayıcı özellik taşımaktadır (3).

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalına gönderilen anti-HCV pozitif kan örneklerinde HCV-RNA varlığının ve hastaların karaciğer enzimlerinin belirlenmesi ile histopatolojik tanıların irdelenmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları ile Gastroente-

\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

\*\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

\*\*\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Kayseri.

\*\*\*\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

roloji polikliniklerinden laboratuvarımıza gönderilen, anti-HCV pozitif 189 hastanın serum örneklerinde HCV-RNA düzeyleri araştırıldı. Hastalara ait alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri ile karaciğer biyopsi bulguları dosyalarına ulaşılarak incelendi. HCV-RNA düzeylerinin belirlenmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi (Abi Prism 7700, Perkin Elmer) uygulandı (4). İstatiksel analiz ki kare yöntemi ile yapıldı.

## Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 189 hastanın 120 (% 63.5)'sinde HCV-RNA negatif, 69 (% 36.5)'unda ise pozitif bulundu. HCV-RNA pozitif 69 hastanın 33 (% 48)'ünde ALT ve AST düzeyleri normal sınırlardayken, 36 (% 52)'sında yüksekti. Karaciğer biyopsi bulguları normal olanların 7 (% 21)'sinde ve histopatolojik olarak kronik aktif hepatit (KAH) tanısı alanların 62 (% 40)'sinde HCV-RNA pozitif idi. Bu KAH'lı hastaların 29 (% 47)'ünde ALT ve AST düzeyleri normal düzeylerde idi. Bu hastaların 26'sının HCV-RNA düzeyi 100000 kopya/mL'nin altında bulundu.

HCV-RNA negatif olanların 49 (% 41)'unda ALT ve AST düzeyleri yüksek, 71 (% 59)'inde normal bulundu. HCV-RNA negatif olanların 94 (% 78)'ü KAH tanısı almış olup bunların 56 (% 59.5)'sında ALT ve AST düzeyleri normal idi (Tablo 1).

Hastalarda AST/ALT düzeyleri yüksek bulunmasıyla HCV-RNA pozitifliği arasında ve histopatolojik olarak KAH tanısı almasıyla HCV RNA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

## Tartışma

HCV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında rutin olarak serolojik, biyokimyasal ve moleküler biyolojik testler uygulanmaktadır ( 2).

Anti-HCV pozitifliği enfeksiyonun akut ve/veya kronik olması, viremi ve prognoz hakkında kesin bilgi vermemekte, hatta serokonversi-

yonun geliştiği erken dönemde yalnızca negatif sonuç verebilmektedir. Anti-HCV pozitif olgularda HCV-RNA incelenerek doğrulama yapılabilmekte ve bununla gerçek pozitiflik (viremi-replikasyon) ortaya konabilmektedir (2). Bununla birlikte HCV-RNA negatifliği HCV enfeksiyonu varlığını tümüyle yok edememektedir. HCV enfeksiyonu sırasında viremi aralıklı (intermittant) olabilmekte, vireminin olmadığı veya çok düşük düzeyde olduğu dönemlerde PCR'da dahil diğer moleküler biyolojik yöntemler ile HCV-RNA saptanamayabilmektedir (3,5). Bu nedenle hepatit olguları kesitsel bir zaman diliminde değil, devamlı olarak izlenmelidir.

Çolak ve ark (6) ELISA ile anti-HCV saptanan 58 örneğin 42 (% 72.4)'sinde HCV-RNA'nın pozitif olduğunu göstermişlerdir. Gretch ve ark (7) seropozitif olguların %73'ünde, Silini ve ark (8) ise % 72'sinde viremi saptamışlardır. Sönmez ve ark (9) 100 anti-HCV pozitif serumun %66'sında RT-PCR ile HCV-RNA'nın pozitif olduğunu göstermişlerdir. Erdem ve arkadaşlarının (10) yaptığı bir çalışmada kronik hepatit C olgularının % 98'inde HCV-RNA pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada ise anti -HCV pozitif 189 hastanın 120 (% 63.5)'sinde HCV-RNA negatif ve 69 (%36.5)'unda pozitif olarak belirlendi. Anti -HCV pozitif, HCV-RNA'nın negatif olduğu olgularda hasta iyileşmiş veya intermit-tant viremi olasılığı düşünülmelidir.

Sönmez ve ark ( 9) ve Erdem ve ark (10) HCV RNA pozitif olguların çoğunda ALT ve AST seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Gretch ve ark (7) 56 HCV-RNA pozitif hastanın 9'unda (% 16) ALT ve AST düzeylerinin normal olduğunu bulmuşlardır. HCV-RNA pozitif hastalarda ALT düzeyleri normal bulunan raporlar da vardır (8). Espinosa ve ark (11) HCV-RNA pozitif hemodiyaliz hastalarında HCV-RNA negatif olanlara göre ALT düzeylerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada HCV-RNA pozitif 69 hastanın 33 (% 48)'ünde ALT ve AST düzeyleri normal sınırlardayken, 36 (%52)'sında yüksekti.

HCV-RNA pozitif olan HCV enfeksiyonlu hastaların bazılarında ALT normal bulunabilir. Bu hastalar asemptomatik taşıyıcı olabilir veya karaciğerinde hasar bulunmayabilir (minimal olarak değişebilir) veya nadiren kronik hepatit olabilir (12). Bu hastalar viremik ve infek-

**Tablo 1:** Hastaların ALT/AST düzeyleri ve karaciğer histopatolojik bulgularının HCV-RNA ile ilişkisi

		HCV RNA Pozitif		HCV RNA Negatif	
		Sayı	%	Sayı	%
ALT/AST	Normal	33	48	71	59
	Yüksek	36	52	49	41
	Toplam	69	100	120	100
Histopatolojik bulgular	Normal	7	10	26	22
	KAH*	62**	90	94***	78
	Toplam	69	100	120	100

\*Kronik aktif Hepatit

\*\*33'ünde ALT/AST yüksek

\*\*\*38'inde ALT/AST yüksek

siyöz (bulaşma riski yüksek ) hastalardır. ALT düzeyinde dalgalanmalar olabilmekte ve ALT'nin normal olduğu dönemde kronik hepatit görülebilmektedir. Devamlı viremi gösteren olguların bir kısmında normal veya hafif ALT yüksekliğini, virusun düşük sitopatik etkisine veya virusun karaciğer dışında replikasyonuna bağlayan çalışmalar da vardır (12,13 ).

Bu çalışmada, HCV-RNA pozitif ALT ve AST düzeyleri normal olan hastaların 26'sında HCV- RNA düzeyinin 105 kopya/mL 'nin altında olması vireminin çok fazla olmadığını göstermektedir. Jamal ve ark (14) HCV enfeksiyonlu ALT seviyesi normal hastalarda HCV-RNA düzeyinin ALT seviyesi yüksek hastalara kıyasla daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Sonuç olarak; HCV enfeksiyonunun laboratuvar tanısında ELISA ile anti-HCV araştırılması tüm laboratuvarlarda kolaylıkla uygulanabilir bir testtir, ancak anti-HCV pozitif olan hastalarda HCV-RNA varlığının araştırılması ve miktarının belirlenmesi hastalığın prognozunu (gidişatını) değerlendirmede son derecede önemlidir.

#### KAYNAKLAR

1. Akkız H: HCV enfeksiyonu : Epidemiyoloji ve korunma ,Kılıçturgay K, Badur S (eds) ,Viral Hepatit 2001, 1. Baskı Kitabında s 193, 2001, Viral Hepatitle Savaşım Derneği , İstanbul.
2. Türkoğlu S: HCV enfeksiyonu: Viroloji ve Seroloji, Kılıçturgay K, Badur S (eds), Viral Hepatit 2001, 1. Baskı Kitabında s 182, 2001, Viral Hepatitle Savaşım Derneği , İstanbul.
3. Badur S: HCV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı (Alternatif yaklaşım). Bozkaya E, Yılmaz G, Badur S (ed), Klinik viroloji ve viral enfeksiyonların laboratuvar tanısı, Kitabında s 49, 1996 , Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, İstanbul.
4. Takeuchi T, Katsume A, Tanaka T, et al: Real time detection system for quantification of Hepatitis C virus genome. Gastroenterology 1999, 116: 636-642.
5. Freucht HH, Zöllner B, Polywka S, et al: Study on reliability of

commercially available hepatitis C virus antibody tests. J Clin Microbiol 1995; 33: 620-624.

6. Çolak D, Ögünç D, Gültekin M, Er D, Mutlu G: Hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonunu tanısında Enzim Immunaassay ( EIA), Immunoblot (IB) ve Polimeraz Zincir reaksiyonu (PCR) yöntemlerinin karşılaştırılması. Viral Hepatit Derg , 1998 (1) :5-8.

7. Gretch D, Lee W, Corey L: Use of aminotransferase hepatitis C antibody, and hepatitis C polymerase chain reaction RNA assays to establish the diagnosis of hepatitis C virus infection in a diagnostic virology laboratory. J Clin Microbiol, 1992; 30: 2145-2149.

8. Silini E, Bono F, Cerino A , et al: Virological features of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. J Clin Microbiol 1993; 31: 2913-2917.

9. Sönmez E, Kızılkaya N, Taşyaran MA ve ark: Hepatit C virüsü RNA pozitifliğinin karaciğer fonksiyon testleri ile ilişkisi. Klimik Derg, 1996; 9: 44-46.

10. Erdem LK, Ökten A, Badur S ve ark: Kronik C hepatitli hastalarda anti-HCV (II.Kuşak ELISA), antiHCV-IgM ve HCV RNA (PCR) arasındaki ilişki. Viral Hepatit Derg, 1995, 1:13-19.

11. Espinosa M, Martin-Malo A, Alvarez de Lara MA, Soriano S, Aljama P: High ALT levels predict viremia in anti-HCV positive HD patients if a modified normal range of ALT is applied. Clin Nephrol, 2000, 54 (2): 151-6.

12. Brillanti S, Foli M, Gainai S, et al: Persistent hepatitis C viremia without liver disease. Lancet 1993; 341:464-465.

13. Bartolome EJ, Castillo I, Quiroga JA, et al: Etection of hepatitis C virus RNA in serum and peripheral blood mononuclear cells. J Hepatol, 1993; 17 (supp I3) S 90-99.

14. Jamal MM, Soni A, Quinn PG, Wheeler DE, Arora S, Johnston DE: Clinical features of Hepatitis C-infected patients with persistently normal alanine transaminase levels in the southwestern United States. Hepatology, 1999; 30 (5): 1307-1311.