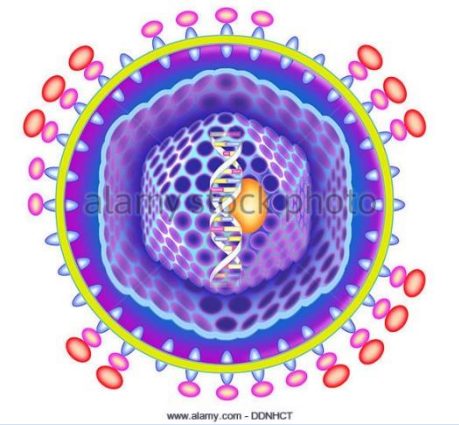


Hepatit C Virüsü: Tanıda Serolojik ve Moleküler Yöntemlerin Yeri

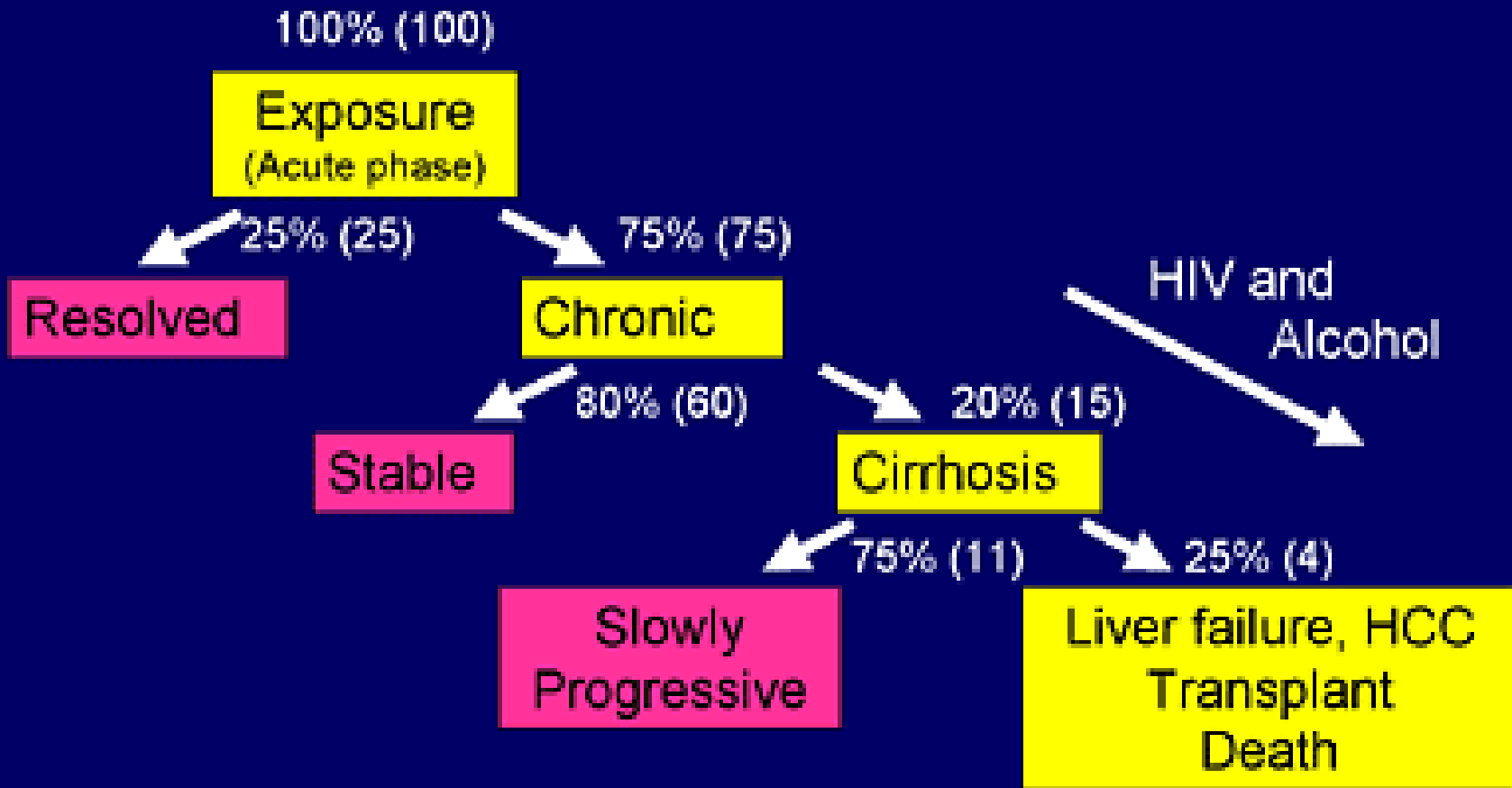


Üner Kayabaş
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Malatya



- Dünyada 130-170 milyon kiři hepatit C virüsü (HCV) ile infekte
- Her yıl 3-4 milyon kişide yeni HCV infeksiyonu gelişmekte ve HCV ile ilişkili karaciğer hastalığına bağlı 350,000'nin üzerinde ölüm

Hepatit C virüs infeksiyonunun seyri



Hepatit C virüsü için test endikasyonları

Yasadışı enjeksiyon uyuşturucu kullanımı veya burun içi kokain kullanımı geçmişi (yalnızca bir kez kullanılmış olsa bile)

1987'den önce pıhtılaşma faktörleri kullanımı

Temmuz 1992'den önce kan / organ alımı

Hepatit C virüsü pozitif test edilen bir donörden kan alımı

Hepatit C virüsüne yakalanmış anneler doğan çocuklar

İğne yaralanması veya hepatit C virüsü pozitif kanla mukozaya temas

Hepatit C virüsüne yakalanmış bir kişinin cinsel partneri olmak

Karaciğer hastalığı (sürekli yükselmiş alanin aminotransferaz [ALT] seviyesi)

1945-1965 yılları arasında ABD'de doğmak

Kronik hemodiyaliz

HIV enfeksiyonu varlığı

Hapiste kalma

Kronik hepatit C virüsü enfeksiyonunun ekstrahepatik bulguları (örn., Porphyria cutanea tarda, miks kriyoglobulinemi)

Hepatit C testleri

- Enzim İmmunoassay (EIA)
- Rekombinant İmmünoblot (RIBA)
- Kalitatif HCV RNA
- Kantitatif HCV RNA
- HCV genotipleme

Serolojik testler

- Hepatit C enfeksiyonunun teşhisi için ilk adımdaki test, HCV enfeksiyonuna yanıt olarak oluşan insan antikörlerini saptayan serolojik testler
- Pozitif HCV antikor testi, belirli bir zamanda HCV enfeksiyonunu belirtir
 - Kişinin iyileşip iyileşmediği veya HCV enfeksiyonunun devam edip etmediğini ayırt etmez

HCV genomu ve Anti-HCV EIA testlerinin kuşaklarına göre hedef epitopları

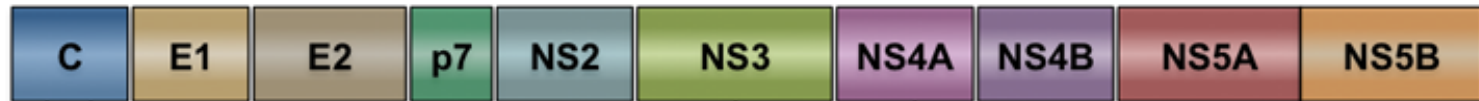


Enzim İmmunoassay (EIA)

- 3. nesil EIA testi HCV antikor testi için en sık kullanılır
- 3. kuşak EIA, dört viral bölgeden türetilmiş rekombinant antijenlere bağlanan antikorları tespit eder
 - Core
 - NS3
 - NS4
 - NS5

EIA Version 3.0

HCV Proteins



c22-3

c200

NS5

HCr43

c200

c100-3

NS5

- 3. nesil HCV EIA hassasiyeti % 98
- Yalancı negatif HCV EIA nadir
 - immünsupresyon (ileri HIV enfeksiyonu veya organ transplantasyonu alıcıları) olan hastalar,
 - uzun süreli hemodiyaliz alan kronik böbrek yetmezliği olan hastalar
 - akut veya erken HCV enfeksiyonu olan hastalar
- Yanlış pozitif HCV EIA nadir
 - Testin özgüllüğü% 99'dan daha fazla,
 - çok düşük hepatit C prevalansı olan popülasyonlarda



Platform (Company)	Test Name	Sensitivity (%)	Specificity (%)
ARCHITECT (Abbott Diagnostics)	HCV Ag Assay	90.2	100
UniCel DxI 800 (Beckman Coulter)	Access HCV Ab PLUS	100	98.2
Advia Centaur (Bayer/Siemens)	HCV2 Assay	100	99.9
VITROS ECiQ (Ortho Clinical Diagnostics)	Anti-HCV	100	99.7



Kemilüminesans İmmunoassay (CIA)

- CIA testi EIA'ye benzer bir antikor testi, ancak HCV için CIA, EIA testinden daha az sıklıkla kullanılır
- HCV tanısı için CIA, 3. nesil EIA ile benzer duyarlılık ve özgüllüğe sahip

Gerçek pozitif anti-HCV antikor testlerinin kesme deęerleri

Test kiti adı	Üretici	Yöntem	≥ % 95 pozitiflik için kesme düzeyi
Ortho HCV Version 3.0 ELISA Test System	Ortho	EIA (enzyme immunoassay)	≥3.8
Abbott HCV EIA 2.0	Abbott	EIA (enzyme immunoassay)	≥3.8
VITROS Anti-HCV	Ortho	CIA (chemiluminescent immunoassay)	≥8.0
AxSYM Anti-HCV	Abbott	MEIA (microparticle immunoassay)	≥10.0
Architect Anti-HCV	Abbott	CMIA (chemiluminescent microparticle immunoassay)	≥5.0
Advia Centaur HCV	Bayer	CIA (chemiluminescent immunoassay)	≥11.0

Hızlı Tarama testleri

- OraQuick HCV Hızlı Antikor Testi, damardan veya parmak ucundan ile elde edilen tam kan örnekleriyle kullanılmak üzere 2010'da FDA tarafından onaylandı.
- OraQuick Hızlı Antikor Testi ilk test olarak HCV antikor testi için 3. nesil EIA'ya alternatif olarak kullanılabilir.

OraQuick testi, 20 ila 40 dakika sonra okunur

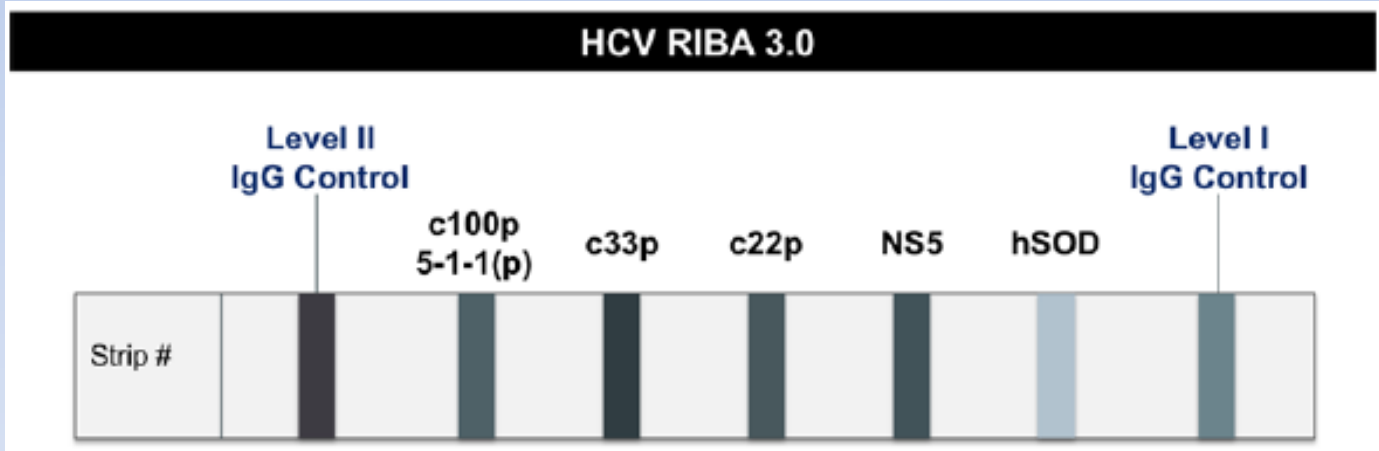


- Sonuç pozitif veya negatif
- Pozitif test sonucu olan bir hastada, bu sonucun ön test olduğu düşünölmelidir ve ek HCV testi yapılmalıdır.



Rekombinant İmmünoblot Testi (RIBA)

- HCV RIBA artık Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılmıyor
- HCV RIBA testi, HCV antijenlerine yanıt olarak üretilen spesifik antikorları tanımlar
 - Pozitif (2 veya daha fazla antijen)
 - Belirsiz (1 antijen)
 - Negatif (0 antijen)



- RIBA antikor testi, pozitif HCV EIA ve negatif HCV RNA olan kişilerde yararlı
 - RIBA, hastanın HCV enfeksiyonunu atlatıp atlatmadığını veya yanlış-pozitif EIA testini belirler

Moleküler HCV RNA Testleri

- Hepatit C moleküler tanı testleri HCV RNA'yı spesifik olarak tespit eder
- Nükleik Asit Testi (NAT) veya Nükleik Asit Amplifikasyon Testi (NAAT)
 - HCV NAT, HCV alındıktan yaklaşık 1-2 hafta sonra pozitif hale gelir.
- NAT testi, HCV EIA tarama testi pozitif olan hastalar için altın standart tamamlayıcı testtir
- NAT, pozitif bir HCV antikor testi olan bir hastanın mevcut (aktif) veya iyileşmiş HCV enfeksiyonuna sahip olup olmadığını belirleyebilir.
- NAT, akut HCV enfeksiyonu olan kişileri teşhis etmek için kullanılabilir.

Kalitatif HCV RNA

- Kalitatif HCV RNA testleri, saptanabilir HCV RNA'nın incelenen örnekte bulunup bulunmadığını belirler
- Kalitatif HCV RNA testleri, FDA tarafından HCV teşhisi için onaylanmıştır. Ancak bu testler, kantitatif HCV düzeyi göstermez ve tedaviye yanıtını izlemek için kullanılmaz.

Kantitatif HCV RNA

- Kantitatif HCV RNA testleri HCV teşhisi amacıyla FDA tarafından onaylanmamıştır.
- Bununla birlikte, son zamanlarda, ultra hassas HCV kantitatif RNA testleri (5 kopya / mL kadar az tespit eden) kalitatif testlere benzer bir tanısal hassaslık seviyesine ulaşmıştır.
- Kantitatif HCV RNA testlerinin duyarlılığı önemli ölçüde iyileştirildiğinden, birçok klinisyen tanı amaçlı kantitatif HCV RNA kullanmaktadır.

Klinik Kullanımdaki Kalitatif ve kantitatif Hepatit C Virüs RNA Testleri

Assay	Manufacturer	Method	Lower Limit of Detection, ^a (Dynamic Range) IU/mL
Qualitative			
Amplicor HCV v2.0	Roche	RT-PCR (manual)	50
COBAS Amplicor HCV v2.0	Roche	RT-PCR (semiautomated)	50
Ampliscreen ^b	Roche	RT-PCR (semiautomated)	<50
Versant HCV RNA	Gen-Probe	TMA (manual)	10
UltraQual HCV RT-PCR	National Genetics	RT-PCR	10
Procleix HIV-1/HCV ^b	Gen-Probe	TMA (manual)	<50
Quantitative			
Amplicor HCV Monitor	Roche	RT-PCR (manual)	50 (600–700 000)
COBAS Amplicor HCV Monitor v2.0	Roche	RT-PCR (semiautomated)	50 (600–700 000)
Versant HCV RNA 3.0	Siemens	bDNA (semiautomated)	615 (615–7 700 000)
COBAS Ampliprep/TaqMan	Roche	qPCR (semiautomated)	18 (43–69 000 000)
Real Time HCV/m2000sp/m2000rt	Abbott	qPCR (semiautomated)	12 (12–100 000 000)
HCV SuperQuant	National Genetics	RT-PCR (semiautomated)	20 (20–1 000 000)
LCx HCV RNA-Quantitative ^b	Abbott	RT-PCR (manual)	25 (25–2 630 000)



Virolojik Yanıtın Sınıflaması

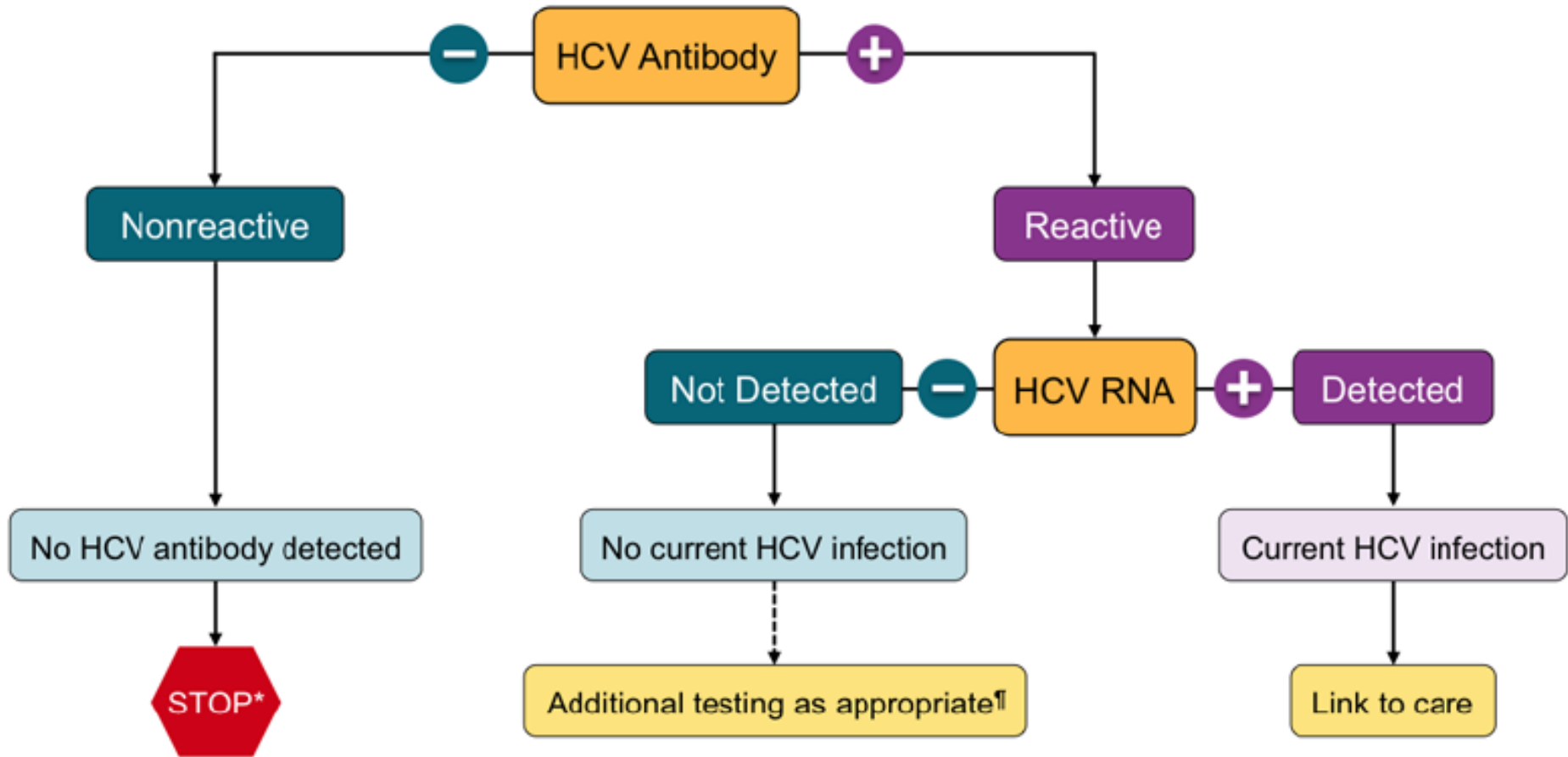
Virolojik Yanıt	Tanım	Elde Edilen Bilgiler
Hızlı virolojik yanıt (HVY)	HCV RNA, 4 hafta tedaviden sonra eşikten düşük	Hastanın sonucunu ve KVY'yi öngörür; Eşik değeri genotipe bağlı
Erken virolojik yanıt (EVY)	HCV RNA viral yükünde, 12 haftalık tedaviden sonra serumda başlangıç düzeylerine kıyasla ≥ 100 kat (2 log) azalma	KVY elde etme olasılığını gösterir
Tedavi sonu yanıt (TSY)	Tedavinin sonunda saptanamayan HCV RNA	Tedavi başarısını ve KVY elde etme olasılığını gösterir
Kalıcı virolojik yanıt (KVY)	Tedaviden 24 hafta sonra tespit edilemeyen HCV RNA	Virüs bulaşması önlendiğini ve tam tedavi sağlandığını gösterir



HCV için önerilen Test Sıralaması

- HCV enfeksiyonu için; risk grubunda bulunan ancak negatif HCV antikor olan kişiler; akut HCV enfeksiyonu, kronik hemodiyaliz veya immünosüpresyon gibi yalancı negatif test için bilinen bir risk faktörüne sahip olmadıkları sürece HCV ile enfekte sayılmazlar ve başka diagnostik değerlendirmelere ihtiyaç duyulmaz
- Pozitif HCV antikor testi ve pozitif HCV RNA'ya sahip olan kişilerde aktif HCV enfeksiyonu vardır
- Pozitif HCV antikor ve negatif HCV RNA saptanırsa, mevcut HCV enfeksiyonuna dair herhangi bir kanıt bulunmadığına karar verilir.
 - Farklı bir HCV antikor testi, geçmişteki (iyileşen) enfeksiyonun yanlış pozitif sonuçtan ayırımına yardımcı olabilir.
- CDC tarafından önerilen HCV tanı testleri dizisi, akut HCV enfeksiyonunun teşhisi için uygun değildir.

HCV Enfeksiyonunu Belirlemek İçin HCV Test Sıralaması

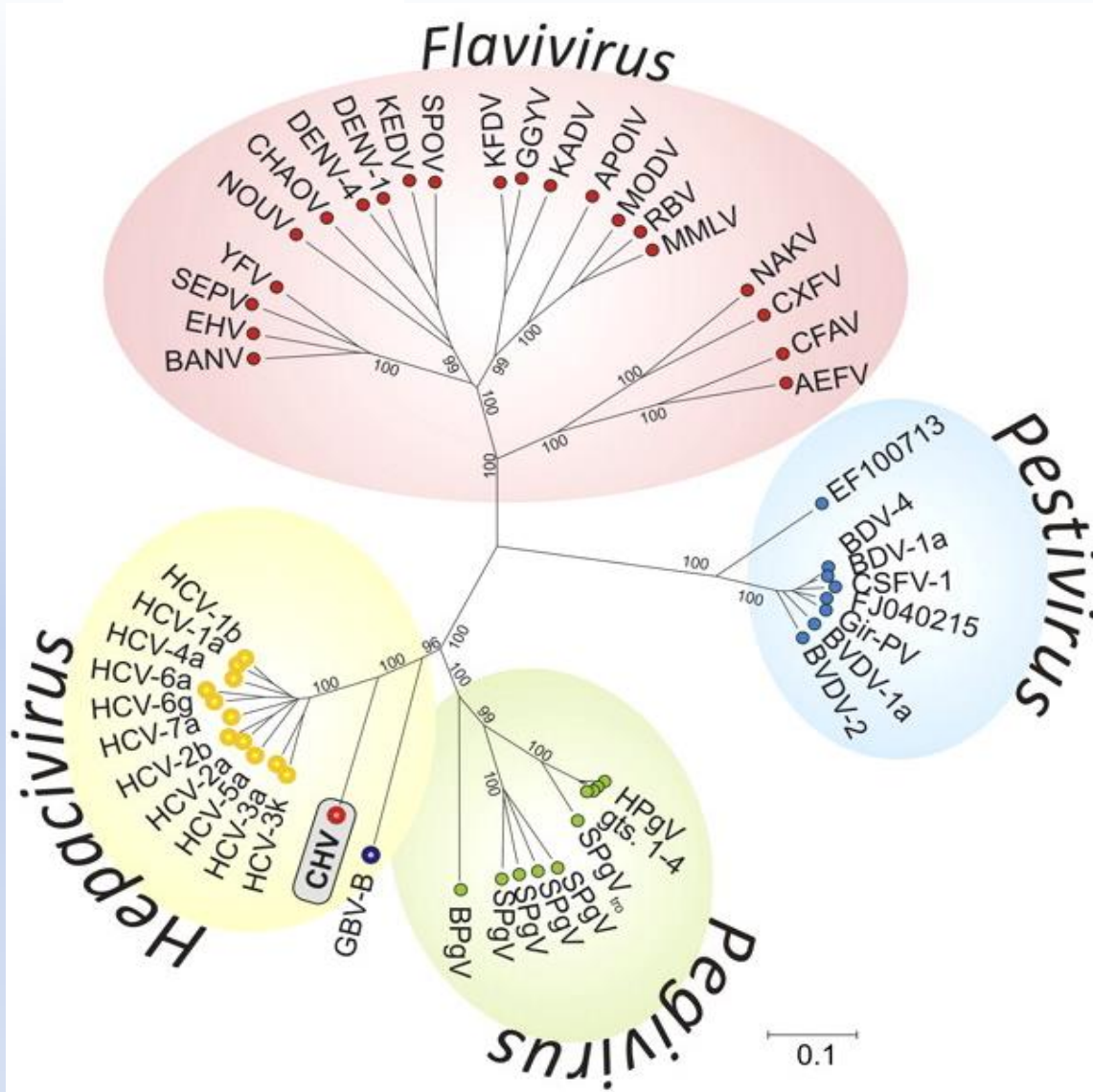


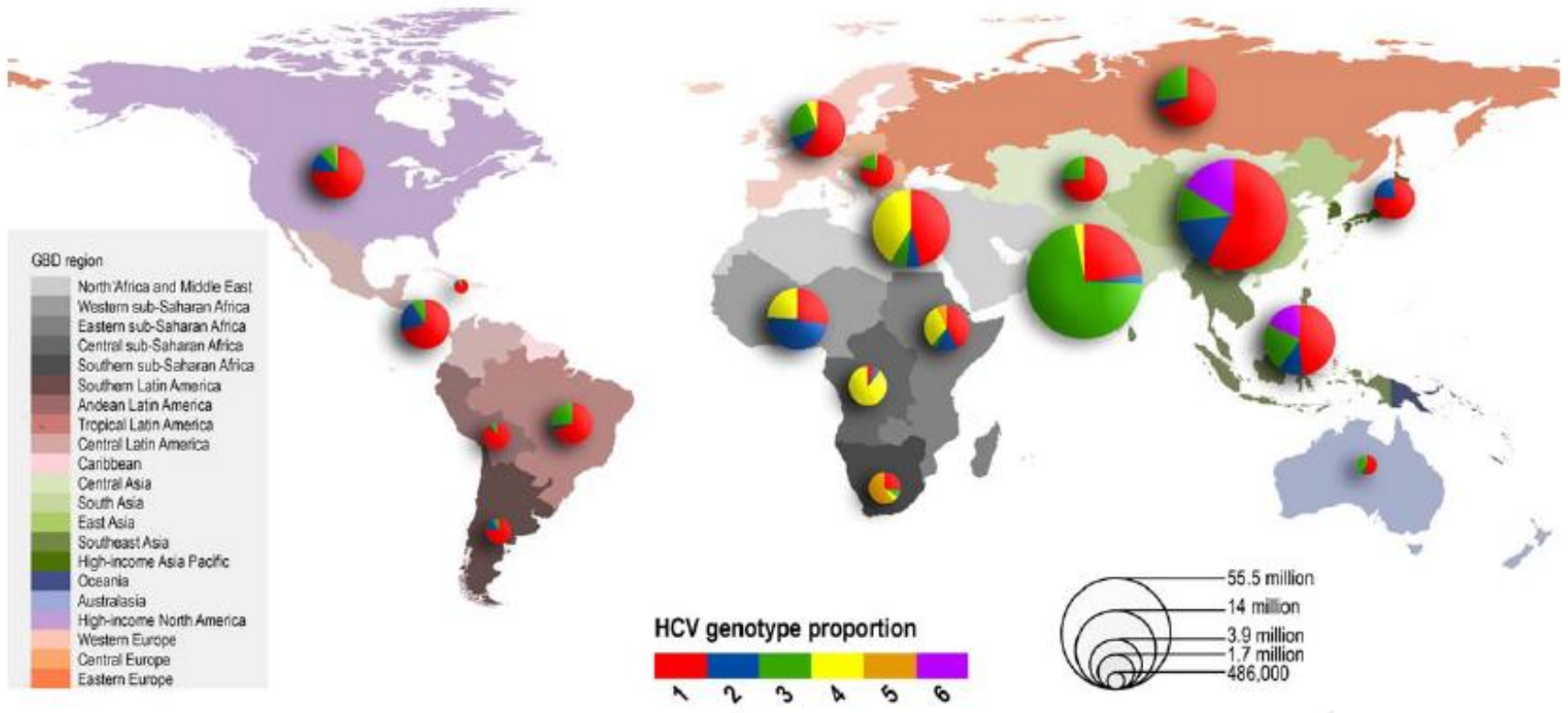
* For persons who might have been exposed to HCV within the past 6 months, testing for HCV RNA or follow-up testing for HCV antibody is recommended. For persons who are immunocompromised, testing for HCV RNA can be considered.

†To differentiate past, resolved HCV infection from biologic false positivity for HCV antibody, testing with another HCV antibody assay can be considered. Repeat HCV RNA testing if the person tested is suspected to have had HCV exposure within the past 6 months or has clinical evidence of HCV disease, or if there is concern regarding the handling or storage of the test specimen.

Genotiplendirme

- HCV genotiplerinin belirlenmesi, antiviral tedavinin süresinin belirlenmesi ve tedaviye yanıtın öngörülmesi açısından önemlidir.
 - Cevap oranı HCV genotipine göre değişir.
- Bununla birlikte, HCV genotipleri ile hastalık şiddeti veya klinik sonuç arasında bir korelasyon olup olmadığı belli değildir.





- Piyasada HCV genotiplendirme için bulunan ticari kitler:
 - INNO-LiPA HCV v.2.0 (Siemens Healthcare Diagnostics, Eragny, France)
 - TRUGENE HCV Genotyping Assay (Siemens Healthcare Diagnostics, Eragny, France)
 - Abbott Real-Time HCV Genotype II assay (Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA).