

Kronik Hepatit B Hastalarından İzole Edilen Hepatit B Viruslarının Moleküler Özellikleri

Uz. Dr. Ali ASAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği

Araştırmacılar

Ali Asan¹, Murat Sayan², Sıla Akhan³, Süda Tekin⁴, Bilgehan Aygen⁵, Fatma Sırmatel⁶, Haluk Eraksoy⁷, Nazan Tuna⁸, Şükran Köse⁹, Ali Kaya¹⁰, Necla Eren Tülek¹¹, Nazlım Aktuğ Demir¹², Reşit Mıstık¹³, Bahar Örmen¹⁴, Fatime Korkmaz¹⁵, Taner Yıldırım¹⁶, Onur Ural¹², Mehtap Aydın¹⁷, Hüseyin Turgut¹⁸, Özgür Günal¹⁹, Neşe Demirtürk²⁰

¹Saęlık Bilimleri Üniversitesi Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Bursa

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvar, PCR Ünitesi, Kocaeli, Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

³Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli

⁴Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁵Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

⁶Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bolu

⁷İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁸Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

⁹Saęlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir

¹⁰Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin

¹¹Saęlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

¹²Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya

¹³Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa

¹⁴İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir

¹⁵Saęlık Bilimleri Üniversitesi Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Konya

¹⁶Saęlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

¹⁷Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

¹⁸Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli

¹⁹Saęlık Bilimleri Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Samsun

²⁰Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon

Giriş

- HBV kısmi çift sarmallı dairesel DNA genomuna sahiptir
- Üst üste çakışan dört açık okuma penceresi (open reading frame, ORF) oluşturacak şekilde organize olmuştur.
- Bunlar; kor/prekor, polimeraz, zarf ve X ORF'leridir

Giriş

- HBV polimeraz, zarf ORF'si ile tam olarak çakışmaktadır
- Polimeraz geninde oluşacak değişiklikler zarf geninde de değişikliğe neden olabilir
- Aşıyla HBV infeksiyonunun önlenememesi, hepatit B immun globülini (HBIG) ile pasif immunizasyonun etkisiz kalması ve HBsAg'nin tanı testlerince saptanamama

Giriş

- HBV'nin replikasyon kapasitesi yüksek
- Polimeraz geninin hata düzeltici özelliği yok
- Genomda tüm olası tek baz değişiklikleri her gün ortaya çıkabilir
- Bu baz değişimleri antiviral tedavi öncesi ve sonrasında ilaç direncine neden olabilir

Amaç

- Kronik HBV taşıyıcılarında hepatit B virusunun moleküler özelliklerinin belirlenmesi

Yöntem

- Analizde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)
- Direkt sekanslama
- Nükleoz(t)id analoglarıyla ilişkili polimeraz gen mutasyonları primer/parsiyel ve kompensatuar direnç olarak tanımlandı

Yöntem

- HBsAg aminoasit değişimleri
- Tipik HBsAg aminoasit değişimleri; aşı kaçağı, hepatit B tanı kaçağı, immun sistem kaçağı ve HBİg kaçağı
- Antiviral ilaç ilişkili potansiyel aşı kaçağı mutasyonları (ADAPVEM) olarak sınıflandırıldı

Bulgular

- Toplam 528 hasta araştırmaya alındı
- Hastaların 271 (%51.3) naiv
- 351 (%66.5) HBeAg-negatif
- 325 (%61.6) erkek
- Yaş ortalaması 38

Bulgular

- Nükleoz(t)id analogları ilişkili HBV polimeraz mutasyonları %32.9 (174/528)
- ADAPVEM %5.3 (28/528)
- HBsAg mutasyonları sıklığı %34.8 (184/528)

Araştırmaya alınan Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri

Hasta sayısı, n	528
Cinsiyet, E/K, (%)	325/203 (61.6/38.4)
HBeAg pozitifliği, n (%)	178 (33.7)
ALT, median (range) U/L	37 (9 - 2584)
HBV DNA, medyan (range) IU/mL	1.3+E4 (6+E2 - 9.8+E6)
Bölgelere göre katılımlar, n (%)	
Marmara (Balıkesir, Bursa, Edirne, İstanbul, Kocaeli)	218 (41.3)
İç Anadolu (Ankara, Konya, Kayseri)	104 (19.7)
Güney Doğu Anadolu (Adıyaman, Batman, Diyarbakır, Antep, Urfa)	73 (13.8)
Karadeniz (Bolu, Giresun, Sakarya, Samsun, Tokat)	55 (10.4)
Ege (Aydın, Denizli, İzmir)	48 (9.1)
Akdeniz (Antalya, Maraş, Mersin, Osmaniye)	30 (5.7)
Klinik durum, n (%)	
HBeAg negatif KHB fazı	333 (63.1)
İmmün reaktif faz	162 (30.7)
İnaktif HBV taşıyıcı fazı	18 (3.4)
İmmün toleran fazı	15 (2.8)
HBV genotipi, n (%)	D: 526 (99.6) H: 2 (0.4)
HBV subgenotipi, n (%)	D1: 461 (87.7) D2: 29 (5.5) D3: 30 (5.7) D4: 6 (1.1)
Ko-enfeksiyon durumu, n (%)	
Anti-HCV pozitif	1 (0.2)
Anti-HDV IgG pozitif	4 (0.8)
Anti-HIV pozitif	7 (1.3)
Tedavi durumu, n (%)	
Tedavi naiv	271 (51.3)
Tedavi deneyimli	257 (48.7)

Kısaltmalar: HBV; hepatit B virusu, E; erkek, K; kadın, KHB; kronik hepatit B

Nükleoz(t)id Analogları İle İlişkili Genotipik Direnç Mutasyonları

Mutasyon türü, n (%)	Mutation tipi	Nükleoz(t)id analogu	Hasta sayısı n (%)	Hasta sayısı n (%)
			Naiv	Tedavi deneyimli
Primer direnç mutasyonu n=84 (15.9)	rtA181G/S/T/V	LAM, LdT, L-FMAU, ADV, TDF*	1 (0.18)	8 (1.5)
	rtT184A/I/L	ETV*	0	9 (1.7)
	rtM204I/V ± rtV173L ± rtL180M	LAM, LdT, L-FMAU, FTC	9 (1.8)	50 (9.4)
	rtM204V + rtT184S	LAM, LdT, ETV	0	1 (0.18)
	rtI233V rtN236T	ADV ADV, TDF	3 (0.5) 1 (0.18)	1 (0.18) 1 (0.18)
		Toplam	14 (2.6)	70 (13.2)
Parsiyel direnç mutasyonu n=20 (3.7)	rtT184L	ETV	0	1 (0.18)
	rtA194S/T/X	TDF	4 (0.7)	6 (1.1)
	rtS202G	ETV	1 (0.18)	6 (1.1)
	rtM250V/R	ETV	1 (0.18)	1 (0.18)
		Toplam	6 (1.1)	14 (2.6)
Kompansatuar direnç mutasyonu n=143 (27.0)	rtL91I	LdT	23 (4.3)	23 (4.3)
	rtQ149K	ADV	19 (3.5)	15 (2.8)
	rtV191I	TDF	0	1 (0.18)
	rtV214A	LAM, L-FMAU, FTC, TDF	2 (0.3)	3 (0.5)
	rtQ215H/P/S	LAM, L-FMAU, FTC, TDF	37 (7)	18 (3.4)
	rtN238D	ADV	1 (0.18)	1 (0.18)
	Toplam	82 (15.5)	61 (11.5)	

* Olası direnç

Kronik Hepatit B Hastalarında Saptanan Tipik HBsAg Kaçış Mutasyonları

HBsAg aminoasid değişim kategorisi	Mutasyon tipi	Hasta Sayısı n (%)	Hasta Sayısı n (%)	Kombine değişimler	Hasta sayısı
		Naiv	Tedavi deneyimli		
HBİg kaçığı mutasyon	sT118A, sP120T, sT123A, sQ129R, sM133L, sY134N, sD144E, sG145K	23 (8.4)	21 (8.2)	sT123A+sG145K	2*
Aşı kaçığı mutasyon	sP120S, sM133L, sS143L, sD144E, sG145R, sS193L	10 (3.7)	12 (4.6)		
Hepatit B yanlış tanı mutasyonu	sP120S/T, sR122K, sT131I, sM133T, sS143L	11 (4)	9 (3.5)		
İmmun sistem kaçığı mutasyon	sQ101H/R, sI110L, sG119I/R, sP120T, T123A/N, sP127T, sG130K/R, sT131N, sT140I, sS143T, sD144E, sG145R	47 (17.3)	51 (19.8)	sS143T+sD144E+sG145R sI110L+sP120T sQ101H+sI110L sQ101H+sP127T sQ101H+sI110L+P120T	1* 2* 1* 1* 1*
	Toplam	91 (33.5)	93 (36.1)		

*Kombine değişimlerdeki hasta sayısı mutasyon tiplerindeki hasta sayılarına eklenmiştir

Naiv ve tedavi deneyimli hastalarda nükleos(t)id analoglarıyla ilişkili ADAPVEM'ler

Mutasyon türü	Mutasyon tipi	Nükleoz(t)id Analogu	Hasta, n (%)	
			Naiv	Tedavi Deneyimli
ADAPVEM n=28* (5.3)	sF161L/rtI169X	ETV	1	-
	sE164D/rtV173L + sS195M/rtM204V	LAM, LdT	-	3
	rtA181T/sL172L	ADV	-	1
	rtA181V/sL173F	ADV	-	3
	sS195M/rtM204V	LAM, LdT	4	7
	sS196L/rtM204I	LAM, LdT	3	6
Toplam			8 (2.9)	20 (7.7)

Sonuç

- İlaç direnç analizi nükleoz(t)id analogu kullanan kronik hepatit B'li hastaların takibinin bir parçası olmalıdır
- İlaç direnci sürveyansı KHB'nin global kontrolü için büyük önem taşımaktadır