

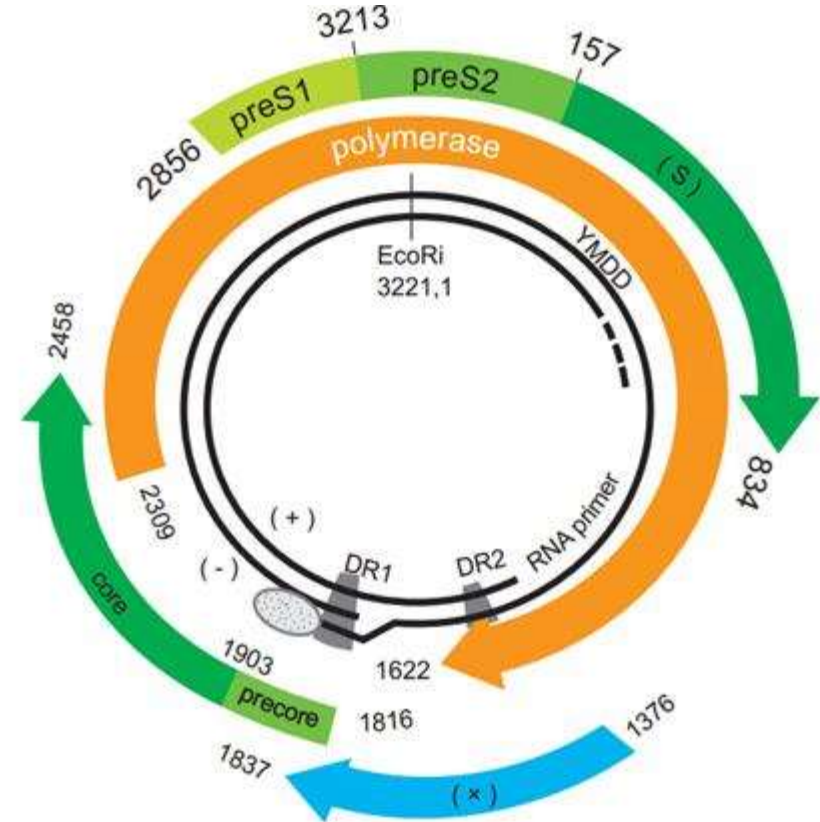
Akut ve Kronik Hepatit B Tanısında Serolojik ve Moleküler Yöntemler ve Atipik Profiller

Dr. Selcan ARSLAN ÖZEL

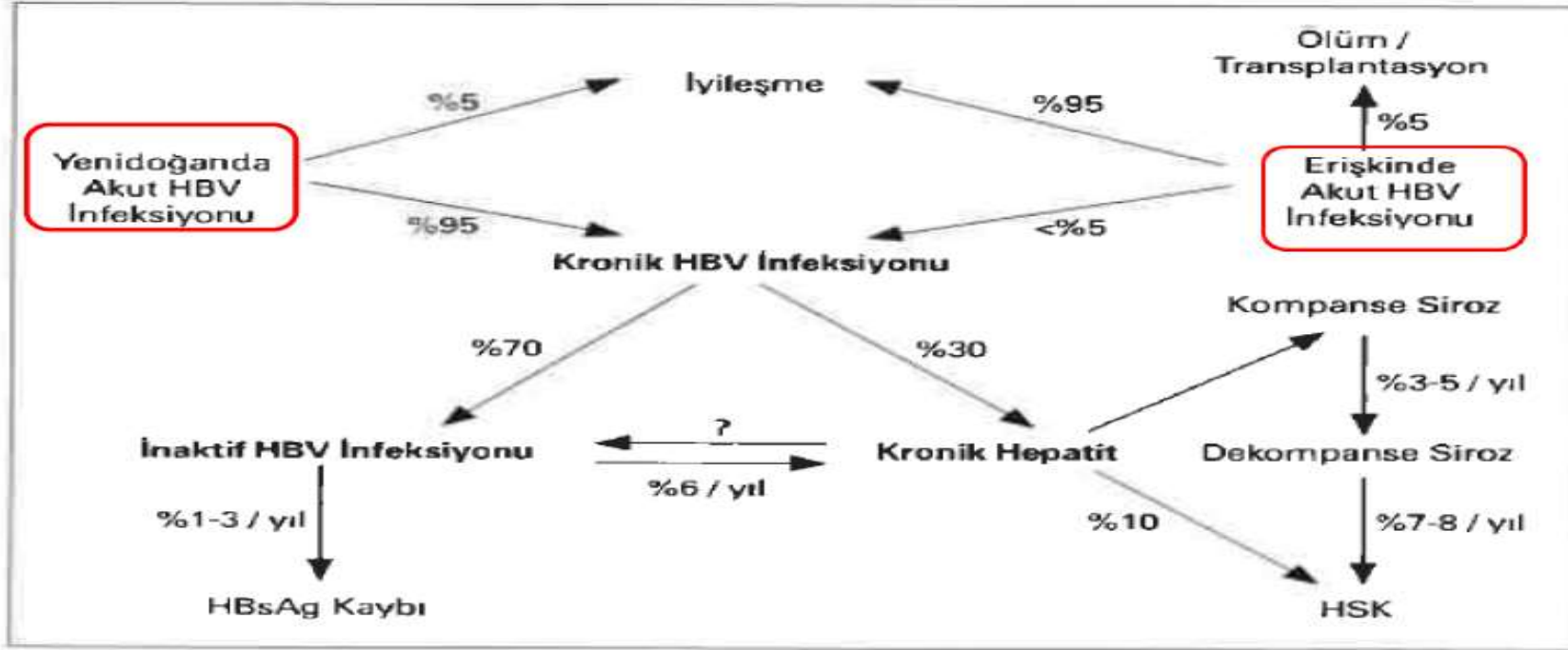
**S.B.Ü Derince Eğitim Araştırma Hastanesi, KOCAELİ
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji**

HBV

- Küçük DNA virüsleri olan *Hepadnaviridae* ailesinin *Orthohepadnavirus* cinsinde
- 42 nm çapında, yuvarlak, zarflı
- 3200 bp uzunluğunda kısmen çift sarmallı halkasal DNA genomu içerir
- Revers transcriptase enzimi var
- S, C, P ve X geni olmak üzere 4 açık okuma bölgesine (ORF) sahiptir



HBV İnfeksiyonunun Doğal Seyri



Şekil 1. Hepatit B virusus infeksiyonunun doğal seyri (Kaynak 46'dan uyarlanmıştır).

HBV İnfeksiyonu Tanı Yöntemleri

- Biyokimyasal tetkikler
- **Serolojik yöntemler**
- **Moleküler yöntemler**
- Histopatolojik değerlendirme

Serolojik Yöntemler

- Hepatit etkeninin saptanması
- Hepatitin evresi (Akut/Kronik)
- Virusun infektivitesi
- Hastalığın prognozu
- Bağışıklık durumu:
 - Duyarlı
 - Aşılı
 - Doğal Bağışık

Serolojik Yöntemler

- Tanıda en sık kullanılan testlerdir
- Antijen antikor birleşmesi esasına dayanan
- İn vitro uygulanan
- İmmünolojik temelli testlerdir

İşaretli İmmün testler:

- Immunofloresan (IFA)
- Radioimmünassay (RIA)
- Enzyme linked immünosorbent assay (ELISA)
- Kemiluminesans immünassay (CLIA)

İmmün blot testler:

- Rekombinant immün blot assay (RIBA)
- Line immünblot assay (LIA)

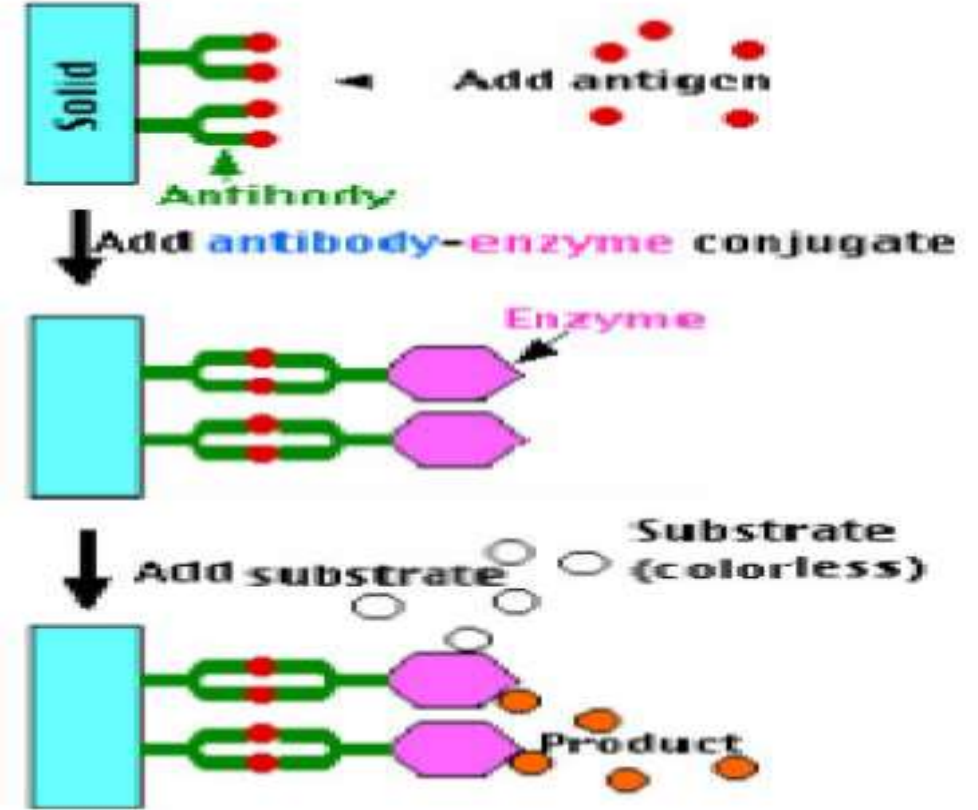
Serolojik Yöntemler-ELISA

Enzyme Linked İmmünosorbent Assay (ELISA=EİA)

- Antikoru enzimle işaretleme yöntemidir
- En sık kullanılan yöntemdir
- Kullanılan reaktifler uzun ömürlü olması
- Artık maddelerle ilgili radyasyon sorununun olmaması
- Uygulamasının kolay ve otomatize edilebilmesi
- Ucuz ve hızlı olması yaygın kullanılmasını sağlar

ELISA; Yöntemi

- Antikor/ Antijen kaplı katı faz üzerine numune örnek eklenmesi
- Gerekli inkübasyon süresi sonrasında serbest ajanlardan arındırılarak enzim işaretli konjugat eklenmesi ve inkübe edilmesi
- İşaretli konjugatı renklendirecek substrat eklenerek reaksiyonun görülebilir hale gelmesi
- Belirlenen süre sonunda reaksiyonu durdurarak okuma işlemi yapılması esasına dayanır



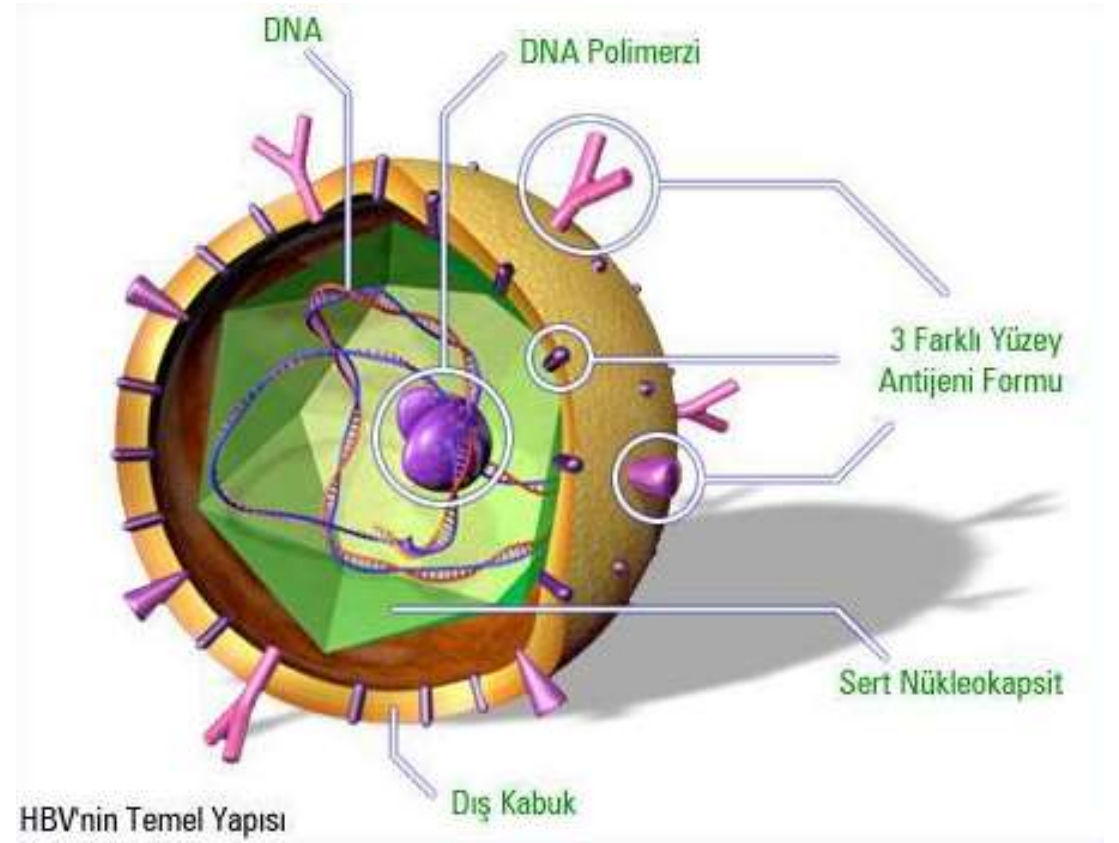
Serolojik Yöntemlerle

HBV'nin 3 antijeni;

- HBs Ag
- Hbe Ag
- HBc Ag

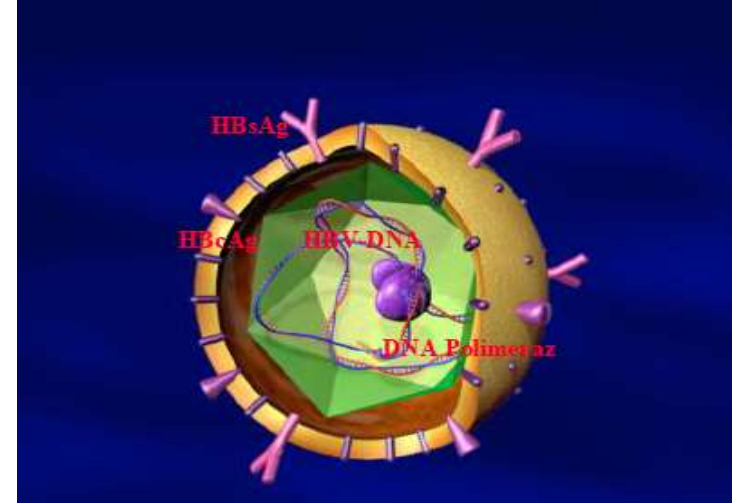
HBV'ye karşı oluşan 3 antikör;

- Anti-HBs
- Anti-HBe
- Anti-HBc Total (IgM, IgG)



Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg)

- Zarf geninin kodladığı yüzey antijenidir
- Kişinin HBV ile infekte olduğunu gösterir
- İnkübasyon sonrası ilk saptanan serolojik belirteçtir
- Virüsle karşılaşma sonrası ortalama 6 (1-10) hafta içinde kanda saptanabilir
- Biyokimyasal bulgulardan ve semptomlardan önce saptanır
(ALT'den 1-3 hafta önce, semptomlardan 3-5 hafta önce)
- Akut ve kronik infeksiyonda serumda tespit edilir
- İyileşen olgularda 2-6 ay içinde kaybolur ve antikor oluşur
- HBs Ag pozitifliğinin altı aydan uzun sürmesi hastalığın kronikleştiğini gösterir



HBsAg

- Serumda HBsAg 3. veya 4. kuşak ELİSA yöntemiyle saptanabilmektedir
- Rutin laboratuvar uygulamalarında HBsAg kalitatif test sonuçları S/CO (sample/cut off) olarak verilir.(Duyarlılık sınırı ≤ 0.112 IU/mL)
- Viral replikasyon sırasında meydana gelen mutasyonlar testlerin performansını etkileyebilir
- Antikoagülanlı örnekler yalancı pozitifliğe neden olabilir

Kantitatif HBsAg

- HBsAg miktarı;
 - İnfekte hücre havuzunun göstergesi
 - Anti viral ilaçlardan etkilenmez
- Akut HBV infeksiyonunda ilk 4 haftada HBsAg titresinde %50'den fazla düşüş olması iyileşme göstergesidir
- Kronik HBV infeksiyonunda;
 - Evreleme
 - Komplikasyon gelişimini ve
 - Tedavi yanıtını değerlendirmede kullanılabileceği ile ilgili çalışmalar vardır

Kantitatif HBsAg

- HBsAg kantitasyonu için DSÖ tarafından geliştirilen bir standart (IU/mL) bulunmaktadır
- Ticari testlerde kantitasyon aralığının dar olması örneklerin dilüe edilerek çalışılmasını gerektirmektedir

	Architect QT (Abbott Laboratories)	Elecsys HBsAg II Quant (Roche Diagnostics)
Aralık (IU/mL) (serumda)	0.05–250	0.05–130
Dilusyon	Manuel 1:999 Sistemde 1:500	Manuel > 1:100 - 1:400 Sistemde 1:100 -1:400
Final aralık (IU/mL)	0.05–250,000	0.05– 52,000
Metod	Kemiluminesan mikropartikül immunoassay	Eektrokemiluminesan

[Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2014 Feb;8\(2\):185-95. doi: 10.1586/17474124.2014.876362.](#)

Hepatitis B surface antigen quantification in chronic hepatitis B and its clinical utility.

[Hadziyannis E¹](#), [Hadziyannis S.J.](#)

The role of quantitative hepatitis B surface antigen revisited

Markus Cornberg , Vincent Wai-Sun Wong , Stephen Locarnini , Maurizia Brunetto ,
Harry L A Janssen , Henry Lik-Yuen Chan

Table 1. Quantitative HBsAg in the management of different settings of chronic HBV-infections.

Natural course
HBsAg positive
HBsAg >100,000 IU/ml associated with high replicative HBsAg carrier ("immune tolerance")
HBsAg >25,000 IU/ml >90% PPV for minimal liver fibrosis <F1
HBsAg negative
HBsAg <1000 IU/ml and HBV-DNA <2000 IU/ml is associated with lower risk for HCC
HBsAg <1000 IU/ml and HBV DNA <2000 IU/ml corresponds to 90% PPV for inactive carrier phase (genotype D)
HBsAg <100 IU/ml is probably associated with spontaneous HBsAg clearance
Treatment with PegIFN
HBsAg positive
HBsAg <1500 IU/ml at week 12 corresponds to 57% PPV for HBeAg seroconversion and 17.6% HBsAg clearance
No decline (any decline) of HBsAg at week 12 has a high NP for response (HBeAg loss and HBV DNA <2000 IU/ml at 24 weeks post-treatment). Response <5% (genotypes A and D)
HBsAg >20,000 IU/ml at week 12 and 24 associated with 100% NPV for response (HBeAg loss and HBV DNA <2000 IU/ml at 24 weeks post-treatment) (genotypes B and C)
HBsAg negative
No HBsAg decline (any decline) and <2 log decline of HBV DNA showed a NPV of 100% for non-response in genotype D patients
Treatment with NA
HBsAg positive
HBsAg decline >1 log after 12–48 weeks has been associated with HBsAg loss
HBsAg negative
Very slow decline of HBsAg.
Low HBsAg levels (<100 IU/ml) may predict off-treatment response after cessation of NA (after consolidation therapy ≥ 3 years)
Treatment with PegIFN and NA
HBsAg decline of <1 log from baseline to week 12 is associated with high NPV for HBsAg loss
Co-infections
HBV/HCV: Lower HBsAg in HCV dominant patients
HBV/HIV: Higher HBsAg levels compared to mono-infection. Association with CD4 T-cell count. HBsAg decline during ART is associated with CD4 T-cell count
HBV/HDV: Relative high HBsAg level. HBsAg level may be useful to guide IFN therapy

High Levels of Hepatitis B Surface Antigen Increase Risk of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Low HBV Load

TAI-CHUNG TSENG, CHUN-JEN LIU, HUNG-CHIH YANG, TUNG-HUNG SU, CHIA-CHI WANG, CHI-LING CHEN, STEPHANIE FANG-TZU KUO, CHEN-HUA LIU, PEI-JER CHEN, DING-SHINN CHEN

GASTROENTEROLOGY 2012;142:1140-1149

- KHB’de komplikasyonları değerlendirme;
- HBeAg (-) ve HBV DNA <2000IU/ml 1068 hasta
 - HCC için 10 yıllık kümülatif insidans ;
 - HBsAg <1000 IU/ml olanlarda %0.2 iken
 - **HBsAg $\geq$ 1000 IU/ml** olanlarda ise **%2.2**
- HBV DNA $\geq$ 2000IU/ml olan grupta ise serum HBsAg titresi ile HCC riski arasında ilişki saptanmamış

Hepatit B e antijeni; HBeAg

- Prekor bölgesinin kodladığı aksesuar bir protein
- Aktif replikasyon göstergesi olup yüksek düzeyde infektiviteyi gösterir
- Akut HBV enfeksiyonu sırasında HBs Ag'den sonra ortaya çıkar ve HBs Ag kaybolmadan önce kandan temizlenir
- Akut dönemde 12-14 hafta kanda tespit edilir
- 3 aydan sonra tespit edilmeye devam etmesi kronikleşmeyi düşündürür

Kantitatif HBeAg

➤ Çalışmalarda;

- Hbe Ag pozitif KHB’de antiviral ve Peg INF tedavilerinde tedavi başarısını öngörmeye yardımcı bir parametre olarak kullanılabileceği belirtilmiş
- Ticari standart kantitatif HBeAg testleri mevcut değildir

Hepatit B core antijeni; HBcAg

- HBc Ag core geninin kodladığı virüs kapsidini oluşturan kuvvetli immunojen bir proteindir
- Sadece hepatositlerde saptanan serumda bulunmayan bir antijendir
- Anti-HBc yanıtını T hücrelere gerek duymadan uyarabilir

Hepatit B kor ilişkili Antijen (HBcrAg)

- Precore/core geninden eksprese edilen birkaç antijen içeren bileşik bir biyobelirteçtir
- HBcAg, HBeAg ve öncü protein preC22 den oluşur.
- Bunlar birlikte kor ilişkili antijen olarak isimlendirilir
- HBV replikasyon aktivitesi hakkında HBcrAg kantitasyonu HBsAg kantitasyondan daha iyi bir belirteçtir
- Serumda HBcrAg kantitasyonu;
 - Viral yük
 - İntrahepatik HBV DNA
 - ccc DNA arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir

Hepatit B kor ilişkili Antijen (HBcrAg)

➤ Kronik HBV infeksiyonunda HBcrAg kullanım yerleri;

- KHB de aktivasyonun gösterilmesi ve tedavi yanıtının izlenmesi
- HbeAg (-) kronik infeksiyonu (inaktif KHB) kronik hepatitden ayırmada
- Antiviral tedavi sırasında HCC gelişim riskini izlemede
- Antiviral tedavi sırasında düşük titrede HBcrAg tespiti tedavinin kesilebileceğinin göstergesi olabilir

Hepatit B yüzey antikor; Anti-HBs

- HBV karşı bağışıklığı gösteren antikordur
- HBsAg klirensinden sonra iyileşme döneminde yada aşılama sonrası ortaya çıkar
- Doğal bağışıklıkta; Anti-HBs ile birlikte Anti-HBc IgG pozitifliği
- Aşılama sonrası sadece Anti-HBs pozitifliği
- Aşılamadan 4-8 hafta sonra değerlendirilen antikor yanıtı ≥ 10 mIU/mL ise koruyucudur

Hepatit B yüzey antikor; Anti-HBs

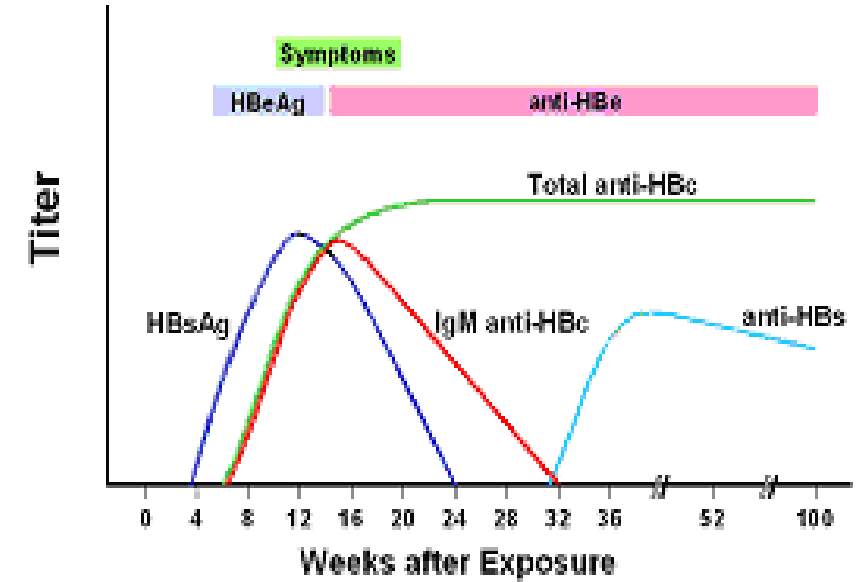
- Antikor yanıtı oluşan bireylerde immun hafıza oluşması nedeniyle yıllar içinde antikor yanıtı kaybolursa da kişiyi infeksiyondan korumada yeterli olduğu bildirilmektedir
- İmmun sistemi normal olan bireylerde, 3 doz aşılamaya sonrası antikoru oluşanlarda rapel doza gerek olmadığı bildirilmiştir (DSÖ 2017raporu)
- Serum anti-HBs değeri ≥ 10 mIU/mL sahip kişilere; immün baskılanma, kemoterapi alma, kronik böbrek yetmezliği/diyaliz programında olma durumları dışında ek doz aşı uygulaması önerilmez. Hemodiyaliz hastalarında yıllık, diğerlerinde ise risk devam ediyorsa anti-HBs değerlerine bakılır ve anti-HBs değerleri < 10 mIU/mL altında saptanırsa ek doz aşı yapılır (SB; Hepatit B Aşı Uygulamaları BDK kararları 2018)

Hepatit B e antikor; HBeAb/Anti-HBe

- HBeAg'ye karşı gelişen antikor yanıtıdır
- HBe Ag kaybolmasını takiben hemen yada 1-2 hafta sonra anti-HBe saptanabilir
- Serokonversiyon sırasında serumda bir süre HBeAg ve anti-HBe birlikte bulunabilir
- Yıllarca serumda pozitif kalabilir
- HBeAg üretimini engelleyen precore mutasyonlar yoksa;
 - HBeAg nin negatif, anti-Hbe nin pozitif olması virus replikasyonunun yavaşladığını ve infektivitenin azaldığını gösterir
- HBeAg pozitif KHB tedavisinin başarı kriterlerinde biri Anti-Hbe oluşmasıdır

Hepatit B core antikoru; Anti-HBc IgM

- HBcAg'ye karşı oluşan antikor yanıtıdır
- Akut enfeksiyonda ilk oluşan antikordur
- Hastalık belirtileri ile birlikte pozitifleşir
- Akut enfeksiyon tanısı koydurur
- Akut enfeksiyonda, akut enfeksiyonun pencere döneminde saptanır
- 3- 12 ay içinde azalarak saptanamayacak düzeye iner
- Yerini daima anti-HBc IgG ye bırakır
- Kronik HBV enfeksiyonunun akut alevlenmeleri sırasında da pozitif bulunabilir



Total hepatit B core antikoru; Anti-HBc IgG

- Anti-HBcIgM izleyerek pozitifleşir ve hayat boyu kalır
- HBV ile karşılaşmayı gösterir
- Geçirilmiş HBV infeksiyonunda anti-HBe ve anti-HBs negatifleşse bile serumda ömür boyu saptanır
- Koruyucu antikor değildir
- Çoğu serolojik yöntem ile izole antiHBc IgG tespit edilemez
- Anti-HBc total şeklinde ölçüm yapılır

Anti-HBc IgM kantitasyonu

Anti-HBc aviditesi

➤ Akut-kronik HBV infeksiyon ayrımında;

- Geçmişini bilinmeyen hastalarda ilk kez HBcIgM pozitifliği saptandığında akut infeksiyon mu yoksa KHB aktivasyonu ayırt etmede HBcIgG aviditesi yardımcı olabilir
- Anti-HBc IgM belirli bir düzeyin üstündeki pozitiflikler (>200 PEIU/ml/Vidas) akut infeksiyonda pozitif prediktif değeri artırır
- AntiHBc IgM testinin S/CO (sinyal/cut-off) oranı kullanılabilir (Abbott Architect)
- Akut enfeksiyon için belirlenen eşik değeri S/CO:10 belirlenmiş (NPD%100,PPD %99)
- Kantitatif anti-HBc IgM testleri kullanılarak düşük düzeydeki anti HBc IgM antikörlerinin saptanması, kronik enfeksiyonun akut alevlenmelerinin tanısında yararlı olabilir

Moleküler Yöntemler

Moleküler Yöntemler

- HBV DNA saptanma ve kantitasyonu
- HBV genotipinin belirlenmesi
- cccDNA nın saptanması ve kantitasyonu
- HBV DNA daki çeşitli mutasyonları saptama;
 - Antiviral direnç mutasyonlarının saptanması
 - HBeAg (-) olgularda prekor ve kor promoter mutasyonlarının saptanması
 - Yüzey antijen mutasyonlarının saptanması

Moleküler Yöntemler

Prob Hibridizasyon:

- Southern blot hibridizasyon
- Northern blot hibridizasyon
- Dot blot hibridizasyon
- İn situ hibridizasyon

Hedef amplification:

- PCR (polimeraz zincir reaksiyonu)
- Real-time PCR
- NASBA
- TMA

Sinyal amplification:

- bDNA saflaştırma yapılmadan
HBV DNA'nın serumda ölçülmesi

Prob amplifikasyon :

- Ligaz zincir reaksiyonu
- Siklusa katılan prob tekniği

Moleküler Yöntemler

Moleküler testlerden beklenen özellikler;

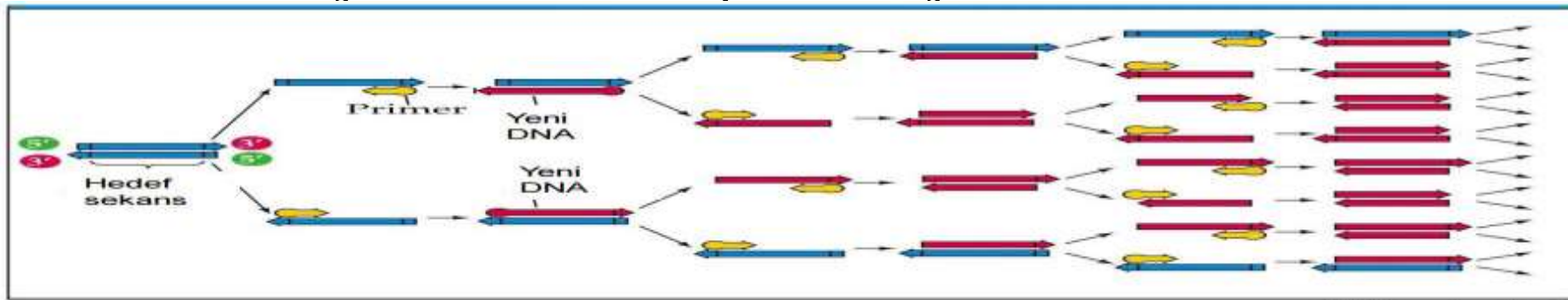
- Yüksek analitik duyarlılık
- Geniş dinamik aralık
- Yüksek tekrarlanabilirlik
- Genotipler arası test ölçüm farklılığının olmaması

Moleküler Yöntemler-PCR

RT-PCR en sık tercih edilen yöntem:

- Duyarlılığı yüksek (alt sınırı <20 IU/ml)
- Geniş bir aralıkta kantitasyon (7-8 log10)
- Kontaminasyon riski düşük

Virusun lizisi ardından DNA'nın saflaştırılması ve çoğaltılması sonrası jel eletroforezinde yürütülerek ölçülmesi yöntemidir



HBV DNA

- Serumda HBsAg den yaklaşık 3 hafta önce saptanır
- Viral replikasyonun en güvenilir göstergesidir
- Akut infeksiyon varlığında kanda 10^9 - 10^{10} IU/ml gibi yüksek düzeyde virüs saptanırken kronik infeksiyon varlığında bu durum değişkenlik gösterir
- DSÖ tarafından belirlenen uluslararası standarta göre HBV DNA miktarı IU/ml olarak ifade edilmektedir
 - 1 IU/ml= 5.26-5.82 kopya/ml
 - 1 pg/ml=283 000 kopya/ml
 - 1 pg/ml= 49 000 IU/ml
 - 1log10 kopya/ml= 101 kopya/ml

HBV DNA

Kantitatif HBV DNA testleri kullanım alanları:

- HBV enfeksiyonunu saptamak
- KHB’de evreleme ve tedavi endikasyonu koymada
- Tedavi yanıtının izleminde
- Antiviral ilaç direncinin saptanmasında
- Serolojik tanıdan kaçan mutant enfeksiyon tanısında
- Okült HBV enfeksiyon tanısı
- Riskli temasda bulaşın erken saptanması

Diğer replikasyon göstergeleri

cccDNA ve viral mRNA:

- Karaciğer dokusundaki HBV replikasyon araçlarının saptanması viral replikasyon için duyarlı göstergeler
- Antiviral tedavi sonrasında HBV DNA serumda negatifleşse bile hepatositlerde replikasyon devam edebilir
- Replikasyon araçları tedavi izleminde önemli bilgi sağlayabilir
- Ancak bu testlerin standardizasyonu olmadığından henüz rutin de kullanılmamaktadır

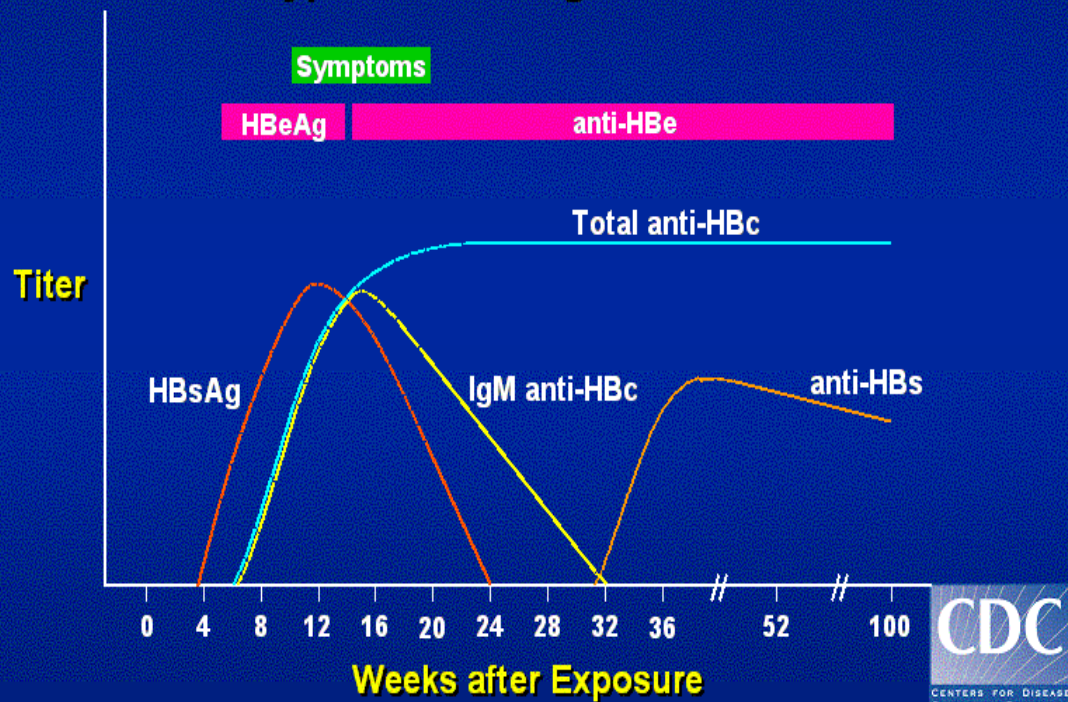
HBV Genotipinin belirlenmesi

- Genotiplerin belirlenmesi bulaş yollarının ve infeksiyonların anlaşılması açısından önemlidir
- HBV genotipini belirlemek için S gen bölgelerindeki PreS1 ve PreS2 bölgelerindeki farklılığı göstermek gerekir
- Farklı duyarlılıkta ve özgüllükte en az 10 farklı genotiplendirme yöntemi vardır:
 - Ters hibridizasyon temelli yöntemler (Inno-Lipa; en sık kullanılan yöntem)
 - Restriction fragment length polymorphism (RFLP)
 - PCR ve RT-PCR
 - DNA Mikroçip
- Ülkemizde HBV genotip D en sık görülen genotiptir (%79-100)

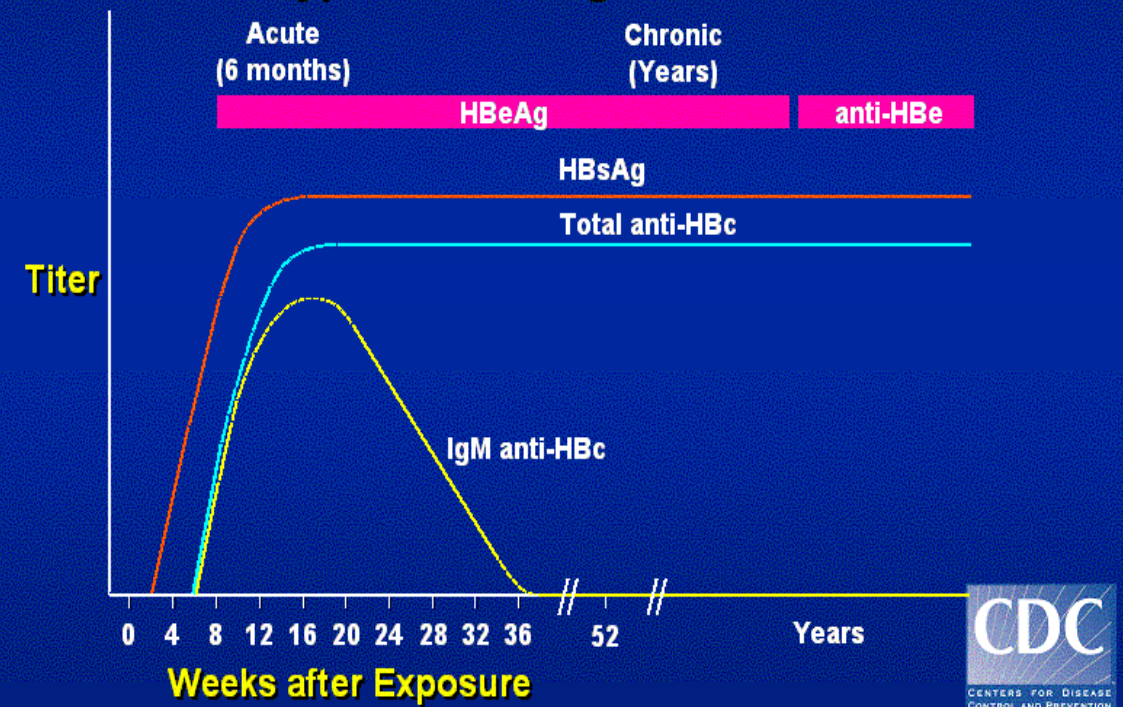
Antiviral direnç mutasyonlarının saptanması

- Polimeraz gen bölgesindeki mutasyonlar ilaç direncine neden olmaktadır
- Viral polimerazın spesifik pozisyonlardaki sekans varyasyonlarının değerlendirildiği çeşitli ticari testler mevcuttur
- İlaç direncini tespit etmek için kullanılan yöntemler:
 - DNA dizi analizi (Altın standart yöntem)
 - Line probe Assay (LPA)
 - Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP),
 - RT-PCR
 - DNA Mikroçip
 - MALDI-TOF kütle spektrometresi (son yıllarda kullanımı artan, daha duyarlı testler)

Acute Hepatitis B Virus Infection with Recovery Typical Serologic Course



Progression to Chronic Hepatitis B Virus Infection Typical Serologic Course



HBV İnfeksiyon Değerlendirme

Test	HBV Aşısı	Akut HBV	İyileşmiş HBV	Kronik HBV	İnaktif HBsAg taşıyıcılığı	Okült HBV
HBsAg	-	+	-	+	+	-
Anti-HBs	+	-	+	-	-	+/-
Anti HBc IgM	-	+	-	-	-	-
Anti HBc IgG	-	-	+	+	+	+/-
HBe Ag	-	+	-	+/-	-	-
Anti-HBe	-	-	+ /-	+/-	+	-
HBV DNA IU/ml	-	+	-	+ >2000	+ <2000	+ <200

İnfeksiyonun doğal seyri ve KHB için yapılması gereken testler

HBV göstergeleri

HBsAg
HBeAg/anti-HBe
HBV DNA

Karaciğer hastalığı

Biyokimyasal parametreler: ALT
Fibroz göstergeleri: "Non"-invazif
testler veya seçilmiş olgularda
karaciğer biyopsisi

	HBeAg pozitif		HBeAg negatif	
	Kronik infeksiyon	Kronik hepatit	Kronik infeksiyon	Kronik hepatit
HBsAg	Yüksek	Yüksek/orta	Düşük	Orta
HBeAg	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif
HBV DNA	$> 10^7$ İÜ/ml	10^4 - 10^7 İÜ/ml	< 2.000 İÜ/ml	> 2.000 İÜ/ml
ALT	Normal	Yüksek	Normal	Yüksek
Karaciğer hastalığı	Yok/hafif	Orta/Ağır	Yok	Orta/Ağır
Eski terminoloji	İmmün toleran	İmmün reaktif HBeAg pozitifliği	İnaktif taşıyıcılık	HBeAg negatif kronik hepatit
	Faz 1	Faz 2	Faz 3	Faz 4

Faz 5 ("occult" HBV enfeksiyonu): Pencere dönemi dışında HBsAg (-) kişilerde karaciğer dokusunda HBVDNA tespit edilmesi durumu olup serumda HBVDNA (+) veya (-) olabilir. Serumda HBVDNA saptanırsa genellikle < 200 IU/ml olur. Seropozitif veya seronegatif olarak görülebilir.

ATİPİK PROFİLLER

Atipik Profiller

➤ Tanısal yaklaşımdaki tüm gelişmelere rağmen günümüzde;

- Yanlış pozitif
- Yanlış negatif
- İndeterminat(belirlenemeyen) sonuçlar izlenebilmektedir

Tanısal Problemler

- Laboratuvar kaynaklı:
 - Örneğin alınması, saklanması, transportu
 - Tanı kitlerinde yetersizlikler
 - Test yapımı esnasındaki hatalar
- Etken kaynaklı:
 - Çoklu virüs enfeksiyonu
 - Mutant virüsler
- Konak kaynaklı:
 - Antikor yanıtında yetersizlik, cevapsızlık
 - İmmun tolerans, immün yetmezlik, uzun süreli enfeksiyon öyküsü
 - Pasif antikor geçişi
- Enfeksiyona bağlı:
 - Erken dönemi
 - Pencere dönemi
 - Okült enfeksiyon

Atipik profil saptandığında

- Testlerin aynı örnek ile tekrarı
- Yeni bir örnekte testlerin tekrarı
- Farklı bir kit ile testlerin tekrarı
- Gereğinde HBV DNA

Atipik serolojik profiller

- İzole anti-HBc pozitifliği
- Okült HBV enfeksiyonu
- HBsAg ve anti-HBs nin birlikte pozitifliği
- İzole HBsAg pozitifliği
- İzole anti-HBs pozitifliği
- HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitifliği /negatifliği
- Anti-HBc negatif kronik HBV enfeksiyonu

İzole Anti-HBc pozitifliği

- HBsAg ve anti-HBs (-) iken anti-HBc (+) olma durumudur
- Virusla karşılaşmayı gösteren en duyarlı marker
- En sık görülen atipik serolojik profil
- Ülkemizde kan bağışçılarında % 2- 2,5 oranında görülmektedir

İzole Anti-HBc pozitifliği Nedenleri;

- Akut enfeksiyonun uzamış pencere dönemi;
 - HBsAg kaybolmuş ancak henüz anti-HBs oluşmamıştır
- İyileşmiş HBV enfeksiyonu;
 - En sık neden.
 - Yıllar içinde anti-HBs'nin saptanabilir seviyenin altına inmesi, HBV DNA negatif
- Okült HBV enfeksiyonunda;
 - Kronik HBV enfeksiyonunda HBsAg' nin saptanabilir düzeyin altında olması (immün baskılanma, immün kompleksler, ko enfeksiyon gibi nedenlerle), HBV DNA pozitif

İzole Anti-HBc pozitifliği Nedenleri;

- Pasif antikor geçişi;
 - Kan ve kan ürünü transfüzyonu veya anneden bebeğe pasif antikor geçişi ile geçici 3-6 ay süreli geçici izole anti-HBc (+) görülebilir
- Yalancı anti-HBc pozitifliği (%1-35);
 - HBcAg ile benzer epitopları olan antijenlere karşı çapraz reaksiyon olması (ANA ve RF pozitifliği)

İzole anti-HBc pozitifliği; neler yapılabilir?

- Yeni serum ile test tekrarı
- Tekrar pozitiflik çıkarsa HBV DNA testi
- HBsAg baskılanmasını araştırmak için ko-infeksiyonlar sorgulanmalı
 - HCV
 - HIV
 - HDV
- Uzamış pencere dönemi ve konvelasan dönemin başlangıcında olan enfeksiyon tekrarlayan HBsAg ve anti- HBs testleri ile takip edilir
- HBsAg titresinde azalma ise artan duyarlılıkta HBsAg testlerinin kullanımı ile saptanabilir
- Yanlış pozitiflik açısından özellikle romatolojik parametreler taranabilir

Görölme sıklığı

HBsAg (-) kan bağışçılarında izole anti-HBc;

- İngiltere %0.5
- Amerika %0.8
- Almanya %1.4
- Yunanistan %15.3
- Suudi Arabistan %16.4
- Gana %76

Bursa'da 9282 HBsAg (-) kan bağışçısı

- 225 (%2.5) izole anti-HBc (+)
- 1 kişide (%0.01) HBV DNA (+)

Bal SH, et al. Mikrobiyol Bul 2009; 43: 243-50

Isparta'da 2500 HBsAg (-) kan donörü

- anti-HBc (+) %16.0
- İzole anti-HBc (+) %1.8
- HBV DNA (+) %6.6

Tas T, et al. Med Glass (Zenica) 2012; 9: 227-30

İzole anti-HBc pozitifliği; Önemi nedir?

- Kan bankacılığında izole anti-HBc pozitifliğinde bulaştırıcılık sorun oluşturmaktadır
- İmmün süpresif tedavi alacaklar
- Hemodiyaliz, organ nakil hastaları, homoseksüeller ve intravenöz uyuşturucu kullanan izole anti-HBc pozitif olgularda HBV DNA pozitifliği %40'ları bulabilmektedir
- Karaciğer/organ nakli olacak hastalarda bulaştırıcılık ve aktivasyon açısından önemli

Okült HBV infeksiyonu

- Pencere dönemi dışında, HBsAg negatif bireylerde karaciğer dokusunda HBV DNA tespit edilmesi (serumda HBV DNA +/-)
- Serumda tespit edilebilir HBV DNA düzeyi genellikle <200 IU/ml
- Okült Hepatit B (OHB) infeksiyonu iki şekilde görülebilir:
- **Seropozitif OHB:** anti-HBc ve/veya anti-HBs pozitif
- **Seronegatif OHB:** anti-HBc ve anti-HBs negatif

Okült HBV enfeksiyonu nedenleri:

- HBV genom mutasyonları;
 - S gen bölgesi, tedavi ilişkili, RNA splicing , preS ve X gen mutasyonları
- Ko enfeksiyonlar;
 - HCV, HIV, *Schistosoma mansoni* koinfeksiyonları
- Konak immün yanıtının baskılanması
- HBV DNA da meydana gelen epigenetik değişiklikler
- HBV DNA'nın konak genomuna integrasyonu
- İmmunkompleks oluşumu ile HBsAg'nin anti-HBs ile maskelenmesi
- Periferik kan mononükleer hücrelerin HBV ile enfeksiyonu

False Okült HBV infeksiyonu

- S gen bölgesindeki “a” determinantı bütün subtiplerde ortak olup anti-HBs cevabı için dominant B hücre epitopu içerir
- Aşılama ya da Hepatit B İmmünglobülin (HBIG) kullanımı ile seçilen S gen “a” determinant bölgesindeki mutasyonlar HBsAg’nin tanınmasını engelleyebilir
- Tespit edilemeyen HBsAg üreten bu HBV varyantaları (kaçak mutantlar) ile *false* OHB gelişebilir
- False OHB de;
 - Hbe Ag pozitif ve/veya yüksek HBV DNA seviyeleri

Okült HBV enfeksiyonun önemi

- Kan transfüzyonu, hemodiyaliz ve organ transplantasyonu sırasında HBV bulaşı açısından risk oluşturmaları
- Kronik HBV enfeksiyonunun reaktivasyonu veya fulminan hepatite neden olabileceği
- HCC gelişimiyle ilişkili olabileceği
- Kronik HCV enfeksiyonunda hastalık progresyonunu ve tedaviye yanıtı etkileyebileceği bildirilmiştir

İzole HBs Ag pozitifliği

- HBV cor antijenine karşı immün tolerans
 - Anti HBc üretimini bozan HBV mutantının varlığı
 - HBV2 ile enfeksiyonlarda
-
- Akut HBV enfeksiyonunun başlangıç döneminde (ilk 10 gün)
 - HBs Ag pozitif transfüzyon yapılanlarda
 - Hepatit aşılamasından sonraki ilk 18 gün içinde
 - Kite bağlı yalancı pozitiflik

İzole anti-HBs pozitifliği

- Aşılama
- Hepatit B Hiperimmünoglobulin
- Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu
- Anneden bebeğe pasif antikor geçişi
- Okkült HBV enfeksiyonunda

HBsAg ve Anti-HBs birlikte pozitifliği

- Kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda anti-HBs immün baskısı ile HBV kaçak mutantların seçilmesi
- Heterolog subtip spesifik anti-HBs varlığı
- Yeni bir HBV zinciri ile süperenfeksiyon
- OHB'de HBV reaktivasyonu
- Doğal glikoproteinlerden kaynaklı yalancı anti-HBs pozitifliği
- Türkiye'den Aydın N ve ark. HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitifliği %3.6

[illegible]

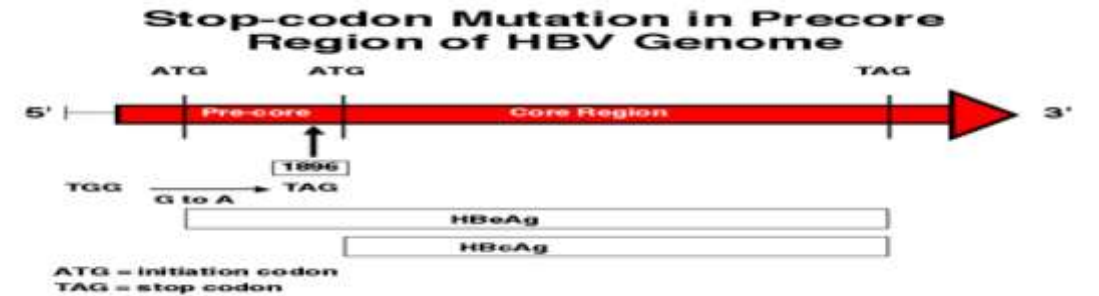
- S geninde başta “a” determinant bölgesi varyasyonları HBsAg antijenitesini anlamlı olarak değiştirir
- *Wild* type virüse karşı oluşan anti-HBs antikorları, varyant HBsAg ile mutasyona uğramış antijene bağlanamaz
- Bu “a” kaçak mutantların seçilmesi HBIG veya aşıya bağlı olmakla birlikte
- HBV doğal seyrinde de görülebilir
- ADAPVEM (İlaca bağlı gelişen aşı kaçağı mutasyonlar)

HBsAg ve Anti-HBs birlikte pozitifliği

- Farklı subtip ile gelişen akut infeksiyonlarda;
 - İmmün yetmezliği olanlarda
 - Damar içi uyuşturucu kullananlarda
 - Hemodiyaliz hastalarında
- Yalancı anti-HBs pozitifliği;
 - *Neisseria gonorrhoeae* ve *Escherichia coli* bakterilerinden izole edilen pili fraksiyonları gibi farklı doğal kaynaklı glikoproteinler testlerde HBsAg'ye bağlanarak

HBeAg ve Anti-HBe birlikte pozitifliği

- Akut HBV'de kısa süreli de olsa HbeAg ve Anti-HBe birlikte pozitif saptanabilir (HBeAg'nin azalmaya, anti-HBe'nin artmaya başladığı bir dönemde bu profilin görülebilir)
- HBe Ag üretimini bozan mutasyonlar olan prekor ve/veya bazal kor promoter mutasyonları HBeAg üretimini azaltmış olabilir
- Vahşı ve mutant virüsle eş zamanlı infeksiyonlar
- HBeAg ve anti-HBe immün komplekslerinin test koşullarında disosiye olarak ayrı ayrı saptanabilir
- Ayırt edici olması için takip gerekir



HBeAg ve Anti-HBe birlikte negatifliği

- Çok sık görülen bir durum değil
- Genellikle KHB tedavisinde HBeAg serokonversiyonu sırasında görülür
- Takipte serokonversiyon(anti-Hbe pozitifliği) veya yeniden HBeAg ortaya çıkışı ile sonuçlanır

Anti-HBc negatif Kronik HBV

- Kronik HBV enfeksiyonun ilerleyen dönemlerinde anti-HBc negatifliği atipik bir serolojik profildir
- Kronik HBV enfeksiyonunda bu profil %0,05-%1,79 arasında görülür

Anti-HBc negatif Kronik HBV;Nedenleri

- Yalancı negatiflik (test kitlerinin farklı duyarlılıkları)
- Kontaminasyonu
- HBcAg ye karşı immun tolerans(T hücre anejisi, spesifik periferel T lenfosit sayısında yetersizlik)
- Vertikal bulaş sonucu intrauterin enfeksiyon ile ilişkili bir fenomen
- Anti-HBc üretimini engelleyen HBV mutantları ile enfeksiyon
- İmmünsüpresyon (HIV, transplantasyon, KT, lösemi, KBY, histiositozis x ve sarkoidoz)
- İmmün kompleks oluşumu (HBcAg-Anti-HBc)

Teşekkürler...