



KLİMİK
HEPATİT AKADEMİSİ 2024
19-21 Ocak 2024
Hilton Garden Inn / Şanlıurfa

VHÇG KLİMİK DERNEĞİ VİRAL
HEPATİT ÇALIŞMA GRUBU



Hepatit C Tanısında Serolojik ve Moleküler Yöntemlerin Yeri

Dr. Tuba Damar Çakırca
Şanlıurfa Eğitim Ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji

Serolojik Testler

Moleküler Testler

Genotip Testi

Direnç Testi

Hızlı Testler

Refleks Test, Reflektif Test

Diğer Karaciğer Testleri

Küresel Sağlık Sektörü Stratejisi

- Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2016 yılında viral hepatitler; «**bir halk sağlığı tehdidi**» olarak tanımlanmış.
- 2030 yılına kadar
 - İnsidanda %90 azalma
 - Mortalitede %65 azalma önerilmiş...

Kronik Hepatit C Virüsü İnfeksiyonunun Yönetimi,
KLİMİK VHÇG Uzlaşısı Raporu, 2023

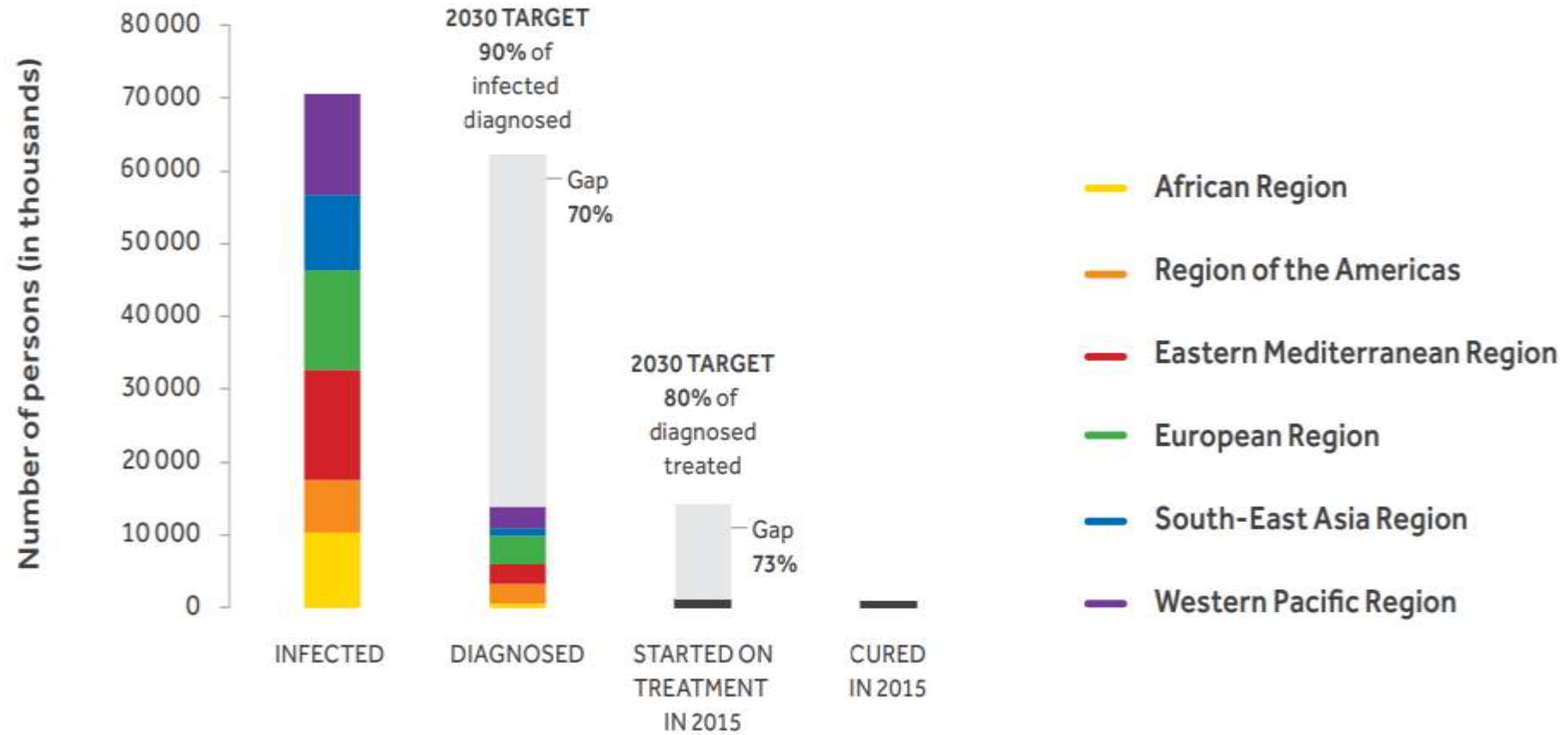
KLİMİK HEPATİT AKADEMİSİ 2024, ŞANLIURFA



GLOBAL HEPATITIS REPORT, 2017



Fig. 8. Cascade of care for HCV infection, by WHO region, 2015



- Dünya genelinde yaşayan HCV ile enfekte hastaların %21 tanı almış
- HCV enfekte hastaların %13 tedavi edilmiş

Evrensel HCV Taraması

- AASLD 2019 yılı rehberinde 18 yaş ve üzeri tüm yetişkinlerde HCV taramasını önermekteydi
- Daha sonra Mart 2020'de US Preventive Services Task Force (USPSTF) tarafından bu öneri 18-79 yaş için güncellendi
- Nisan 2020'de CDC; HCV prevalansı %0.1'in altında olan bölgeler dışında, 18 yaş ve üzeri her yetişkinin ömürleri boyunca en az bir kere, gebelerin ise her gebeliklerinde HCV yönünden taramasını önermiştir.
- **ÖNERİ: Başlangıç testi olarak Anti-HCV testi istenmesi, pozitiflik durumunda refleks HCV-RNA test ile aktif enfeksiyonun araştırılması**

AASLD-IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance 2023 Update: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. Clin Infect Dis. 2023

Kimleri Tarayalım?

Evrensel Hepatit C Taraması Önerileri (HCV RNA pozitifliği dikkate alınarak HCV enfeksiyonu prevalansının <%0.1 olduğu bölgeler hariç)

- ≥18 yaşındaki tüm erişkinler (ömür boyu)
- Gebeler (her gebelikte).

Risk Faktörleri veya Temas Öyküsü Olan Kişilerde Hepatit C Taraması Önerileri (Yaş ve yaşanılan bölgeye göre)

- HIV ile yaşayan bireyler.
- Eskiden damar içi madde kullanmış ve ortopedik diğer uyuşturucu hazırlama ekipmanlarını kullanan kişiler.
- Sürekli anormal ALT düzeyleri olanlar.
- Daha önce hemodiyalize girmiş kişiler.
- 1987'den önce üretilmiş pıhtılaştırma faktörleri kullanmış kişiler.
- Temmuz 1992'den önce kan veya kan ürünü transfüzyonu ya da organ nakli yapılmış kişiler.
- HCV pozitif donörden kan veya kan ürünü almış ya da organ nakli yapılmış kişiler.
- HCV pozitif kanla temas eden sağlık çalışanları.
- HCV ile infekte anneden doğan bebekler.

Risk Faktörleri Devam Eden Kişilerde Rutin Periyodik Hepatit C Taraması Önerileri

- Halen damar içi madde kullanan ve ortak iğne, şırınga veya diğer uyuşturucu hazırlama ekipmanlarını kullanan kişiler.
- Hemodiyaliz hastaları.

Hepatit C Taraması Yaptırmak İsteyen Kişilerde Hepatit C Taraması Önerileri

- Risk durumundan bağımsız test yaptırmak isteyen kişiler.

COVID-19 ve HCV

- COVID-19 pandemisi HCV tarama, tanı ve tedavi kaskadını olumsuz yönde etkilemiştir
- Mart 2020'den itibaren **Anti-HCV** ve **HCV-RNA** test sayıları önemli derecede düşmüştür
- HCV-RNA test pozitiflik oranı Mart 2020'de %62 azalırken, Temmuz 2020'de %39'un altına düşmüştür.
- Bu verilere paralel olarak DAA reçete sayıları da azalmıştır.
- Evrensel HCV taramasının sürekli sıkı bir şekilde yapılmasının kritik önemine vurgu yapılmıştır.

AASLD-IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance 2023 Update: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. Clin Infect Dis. 2023

Tedavi başarısı %100'e
yakın olan ve aşı
olmayan bu enfeksiyonun
eliminasyonu ancak tanı
almamış hastaların
TANInması ile mümkün
olabilecektir.

HCV tanı Testleri

Serolojik Testler

- Anti-HCV (indirek tanı)
- HCV kor Antijen testi (direk tanı)

Moleküler Testler (direk tanı)

- Nükleik Asit Amplifikasyon Testi (NAAT)
(Nükleik Asit Testi- NAT)
(HCV-RNA, HCV-PCR)
 - Kalitatif
 - Kantitatif

HIZLI
TESTLER

GENOTİP

DİRENÇ



Anti-HCV Testi

- HCV tanısında en sık kullanılan ve ilk basamakta yapılan tarama testidir.
- Plazma veya serumda HCV'nin yapısal veya yapısal olmayan epitoplara karşı oluşan antikorlar saptanır.
- Anti-HCV test pozitifliği bağışıklığı değil, virüs ile karşılaşmayı gösterir.
- Anti-HCV, etken alındıktan **4-10 hafta** sonra pozitifleşmektedir.

- Enzim immünoassay (EIA)
- Kemilüminesans immünoassay (CIA)
- Elektrokemilüminesans immünoassay (ECLIA)

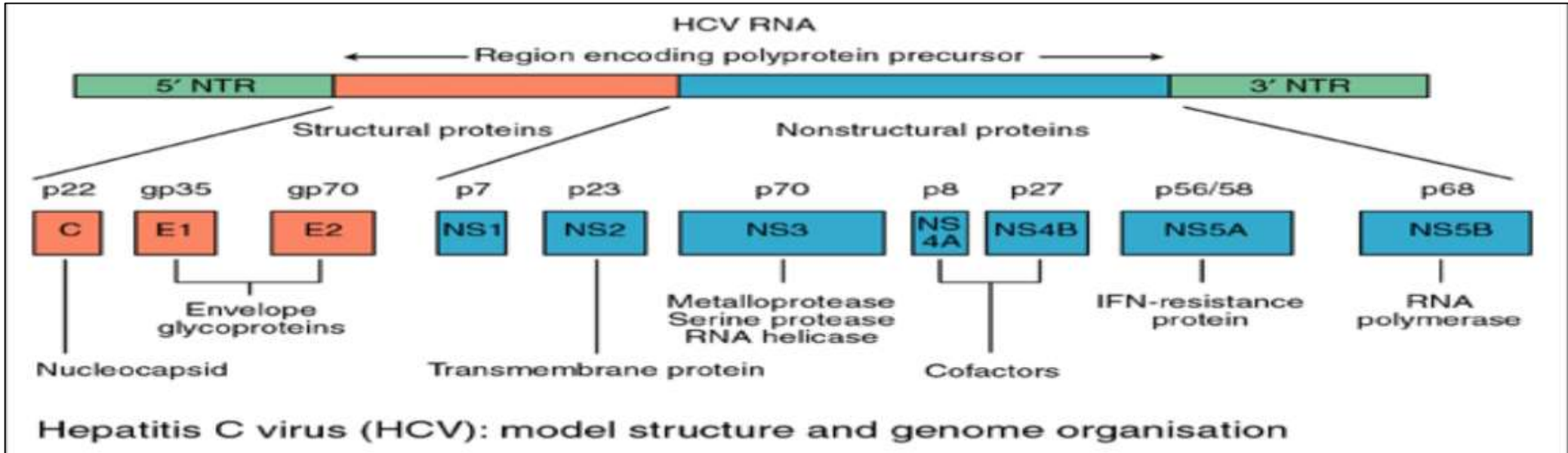
Table 1 Main commercial immunoassays to detect anti-hepatitis C virus antibodies approved for *in vitro* diagnostics

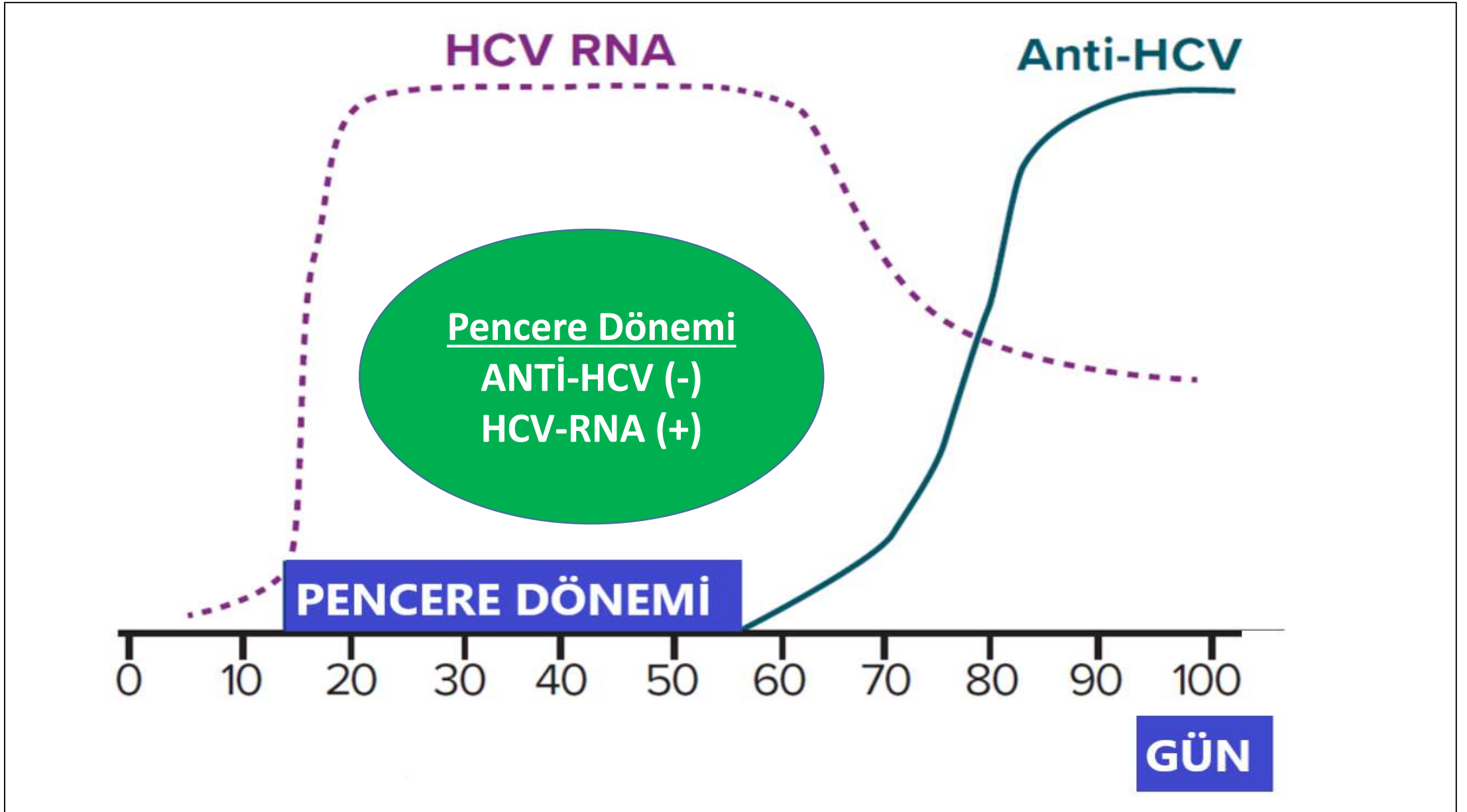
Analyzer and manufacturer	Assay principle	Solid phase	HCV antigens	Reaction sample volume (μL)	Time of reaction (min)	IVD registration
Architect i2000SR, Abbott Laboratories	CMIA	Paramagnetic particles	HCr43 (Core and NS3), c100-3 (NS4A)	20	20	FDA, CE
AxSYM, Abbott Laboratories	MEIA	Paramagnetic particles	HCr43 (Core), c200 (NS3), c100-3 (NS4A)	33	30	FDA, CE
LiaisonXL, DiaSorin	CLIA	Paramagnetic particles	Core, NS3, NS4	25	46	CE
VITROS Eci, VITROS 3600, Ortho-Clinical Diagnostics	CLIA	Microwell	c22-3 (Core), c200 (NS3 and NS4), NS5	20	55	FDA, CE
Elecsys, Roche Diagnostics	ECLIA	Paramagnetic particles	Core, NS3, NS4	40	18	FDA, CE
ADVIA Centaur, Siemens	CLIA	Magnetic particles	c22-3 (Core), NS3, c200, NS5	10	58	FDA, CE

IVD: Certified as *in vitro* diagnostic test or device; CE: Conformité Européenne (European Union); FDA: Food and Drug Administration (United States of America); ECLIA: Electrochemiluminescence immunoassay; CMIA: Chemiluminescent microparticle immunoassay; CLIA: Chemiluminescence immunoassay; HCV: Hepatitis C virus; MEIA: Microparticle capture enzyme immunoassay.

Saludes V, González V, Planas R, Matas L, Ausina V, Martró E. Tools for the diagnosis of hepatitis C virus infection and hepatic fibrosis staging. *World J Gastroenterol.* 2014 Apr 7;20(13):3431-42.

- ✓ **EIA** referans standart olarak kabul edilen ve en çok kullanılan yöntemdir.
- ✓ 4 kuşak (nesil) EIA testi bulunur.
- ✓ Kuşak testi ilerledikçe; hedeflenen epitop sayısı artar, **pencere dönemi kısalır**, testin duyarlılık ve özgüllüğü artar





✓ Birinci kuşak EIA:

- ✓ NS4 bölgesi (C100-3)

✓ İkinci kuşak EIA:

- ✓ Core, NS3, NS4

✓ Üçüncü kuşak EIA:

- ✓ Core, NS3, NS4, **NS5A**

✓ Dördüncü kuşak EIA:

- ✓ Antijen+Antikor
(kombo test)
- ✓ MONOLISA™ HCV Ag-Ab ULTRA
(Bio-Rad)



EIA 1.0				c-100-3
EIA 2.0	c22-3		c33-c	c-100-3
EIA 3.0 CIA	c22-c		c33-c	c-100-3 NS5
RIBA 2.0	c22-3		c33-c 5-1-1	c-100-3
RIBA 3.0	c22-p		c33-c	c-100-p NS5

Figure 1.

Anti-HCV immünoanalizlerinde ve rekombinant immünooblot testlerinde kullanılan hepatit C virüsünü kodlayan antijenler ve peptitlerin yerleri.

CIA: Kemilüminesans- Immunoassay

EIA: Enzim-Immunoassay

RIBA: Rekombinant Immünooblot Antikor Testi

- Bu testlerden en yaygın kullanılanı 3. kuşak EIA testleri olup

d

-
-
- İmmün sistemi güçlü kişilerde bu testlerin duyarlılıkları %95-99'a kadar ulaşmaktadır.
- Buna rağmen bazı durumlarda «**yanlış pozitif**» veya «**yanlış negatif**» sonuç verebilir.

ANTI-HCV Yalancı Pozitif

- ✓ Diğer viral enfeksiyonlarla çapraz reaksiyon (CMV, HIV, HAV, EBV, HBV)
- ✓ SLE, RA gibi Otoimmün Hastalıklar
- ✓ Globülin artışına neden olan hastalıklar (Multipl miyelom)
- ✓ Bazı aşı uygulamaları sonrası (grip aşısı)

ANTI-HCV Yalancı Negatif

- ✓ Pencere dönemi (Enfeksiyonun akut döneminde, henüz yeterli antikor cevabı gelişmemiş)
- ✓ İmmünespresif hasta (HIV, Transplant alıcısı)
- ✓ Diyalize giren KBY hastaları

Table 1. Signal-to-Cutoff Ratios Established for Food and Drug Administration–Approved, Commercially Available Seroassays for Detecting Anti–Hepatitis C Virus Immunoglobulin G

CUT-OFF

Assay	Method	Ratio
Ortho HCV Vers	(manual)	≥ 3.8
Abbott HCV E	(manual)	≥ 3.8
VITROS Anti	(automated)	≥ 8.0
AxSYM Anti	(automated)	≥ 10.0
ARCHITECT	(automated)	≥ 5.0
Advia Centaur	(automated)	≥ 11.0

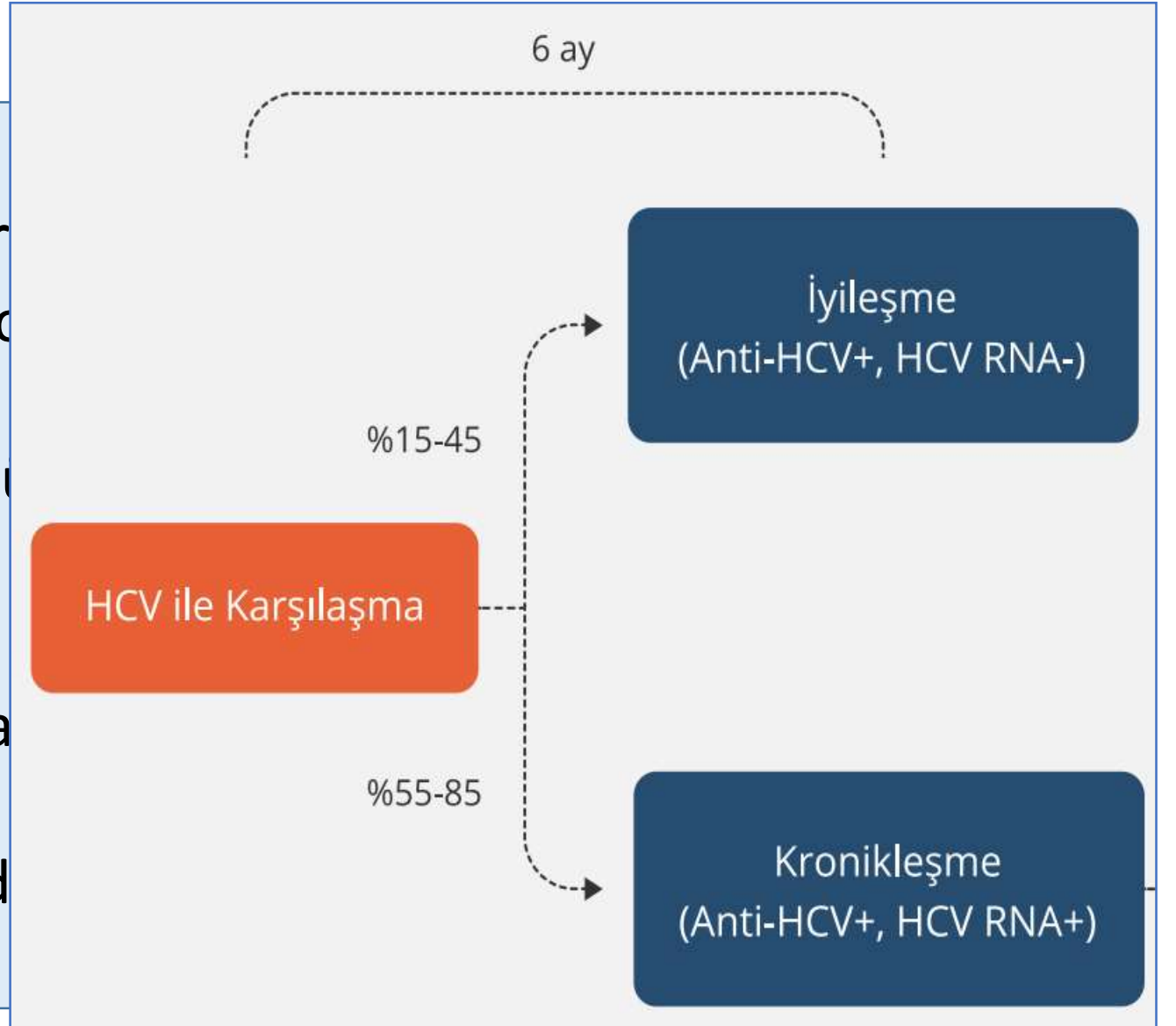
SONUÇ
«POZİTİF»
VEYA
«NEGATİF»
OLARAK VERİLİR

Ratios are predictive of the time.

Abbreviations: CIA, chemiluminescent immunoassay; CMIA, chemiluminescent microparticle immunoassay; EIA, enzyme immunoassay; MEIA, microparticle enzyme immunoassay.

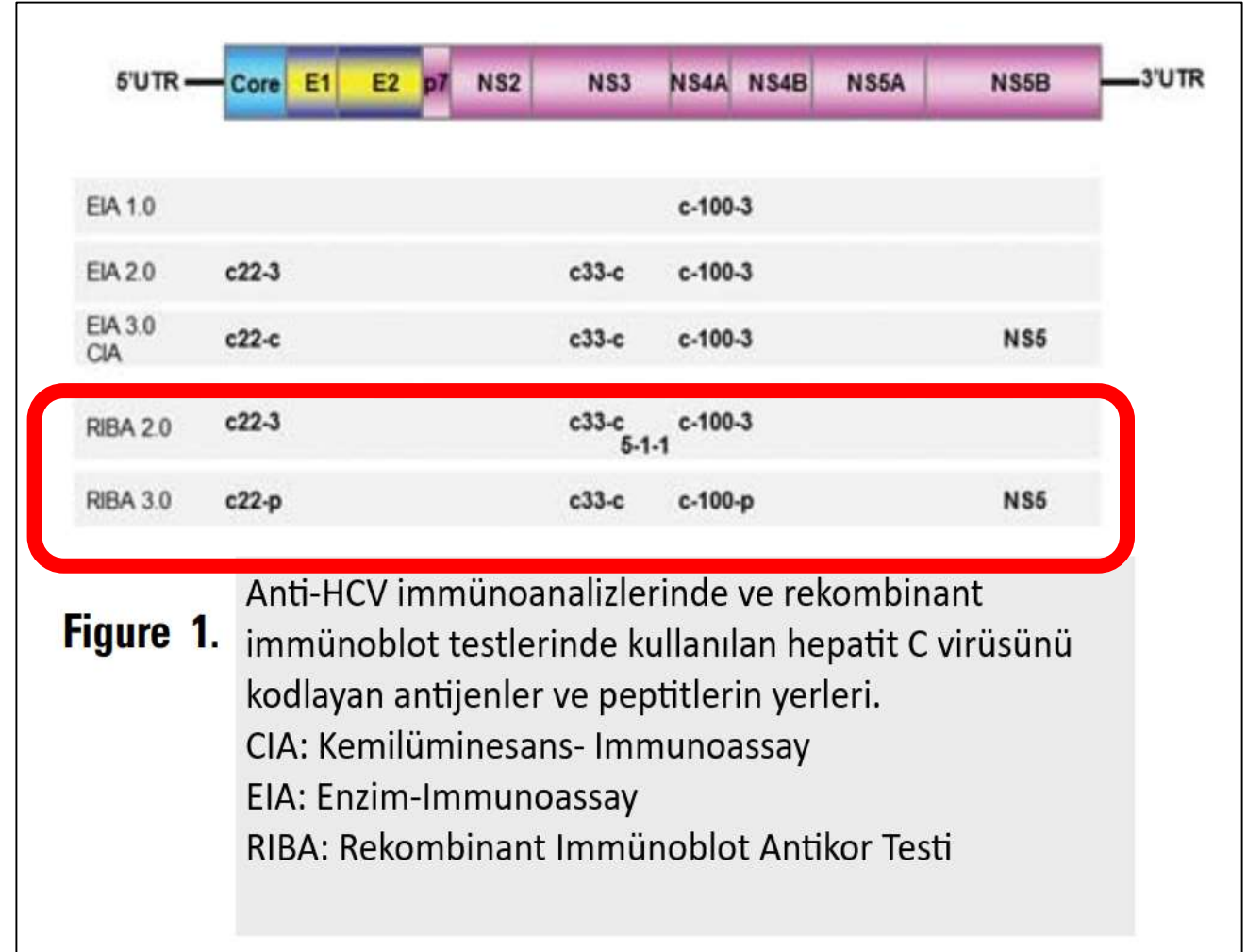
Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. Clin Infect Dis. 2012 Jul;55 Suppl 1:S43-8.

- Anti-HCV, yalnızca bir
- Anti-HCV testinin pe koruyuculuđu yoktur.
- Reenfeksiyonlar gör uyarılmalıdır
- Anti-HCV (+)
 - Aktif viremi olabilir (a
 - Geçirilmiş enfeksiyon
 - Başarılı bir şekilde ted



RIBA (Recombinant ImmunoBlot Assay)

- Anti-HCV pozitif saptanan hastalarda eskiden kullanılan «doğrulama testi»
- Moleküler testlerin yaygınlaşması ile önemini yitirmiştir.
- DSÖ tarafından artık HCV tanı kaskadında kullanılması önerilmemektedir.
- **RIBA testi pozitif bile olsa aktif enfeksiyon varlığının kanıtlanması ileri bir teste muhtaç!**



Anti-HCV pozitif

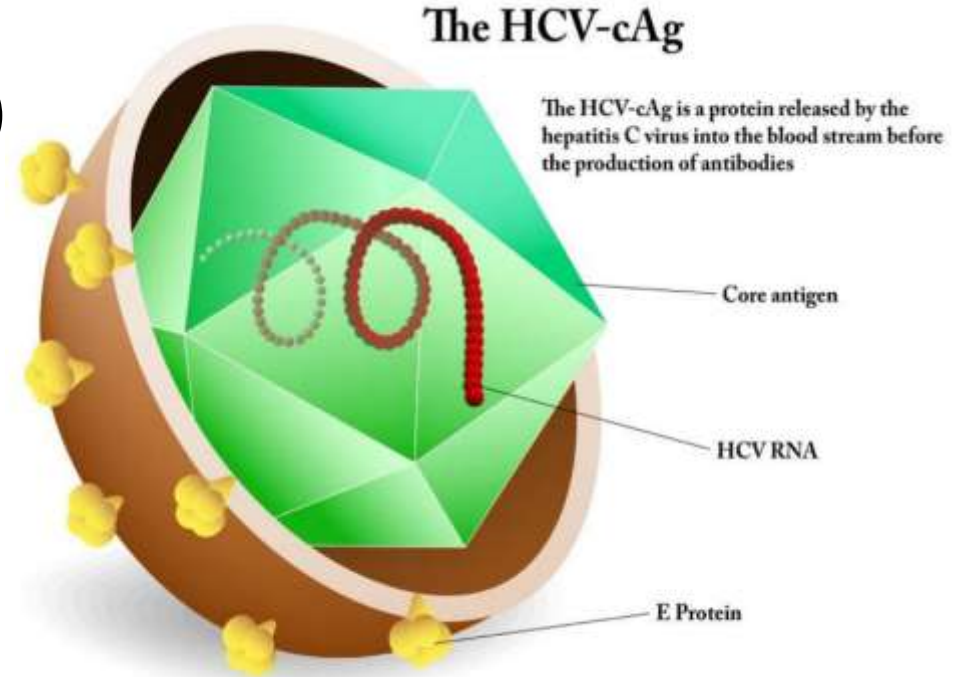
Aktif enfeksiyonun kesin tanısı için
viral komponent gösterilmeli

HCV KOR
ANTİJENİ

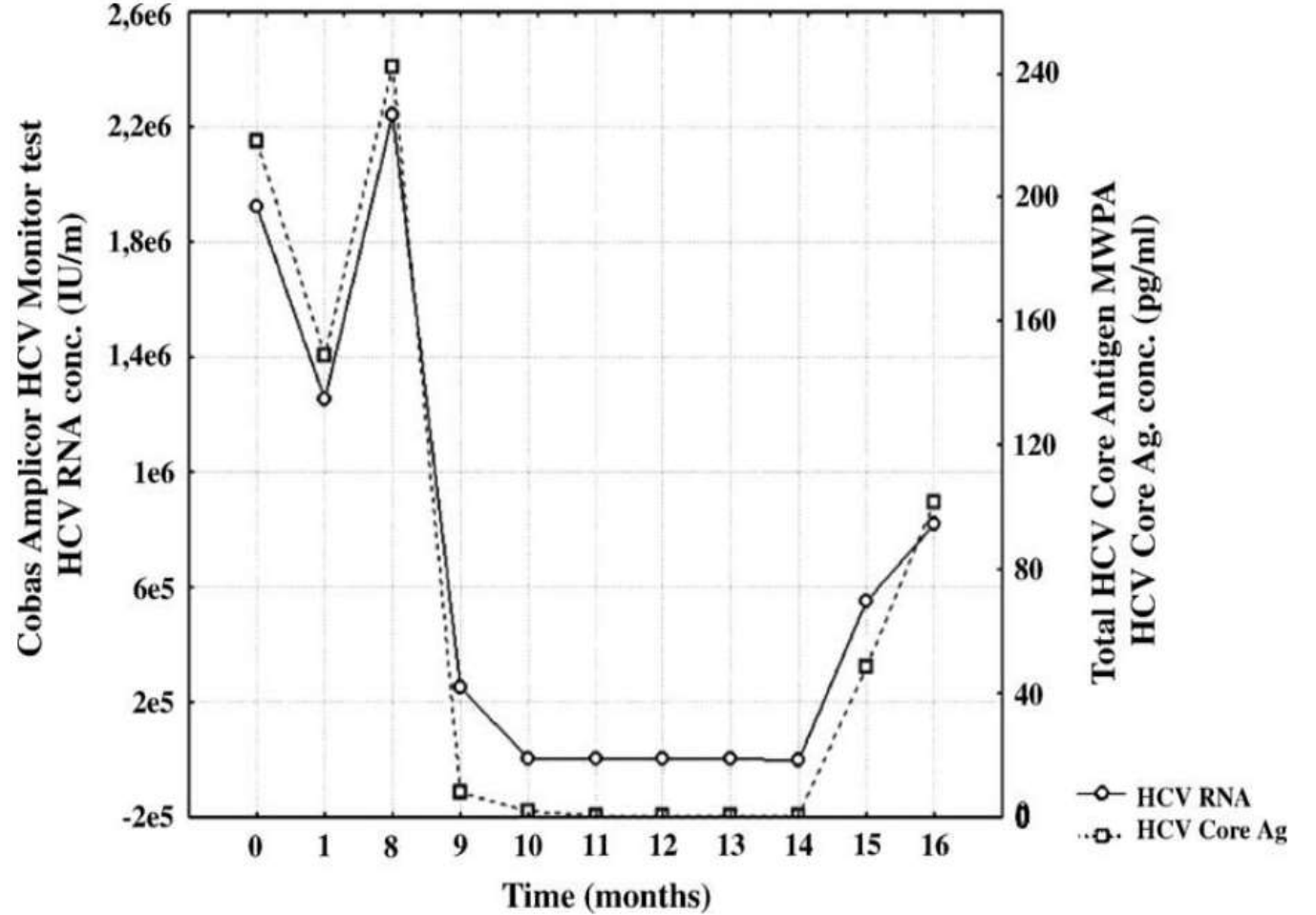
HCV-RNA

HCV KOR ANTİJEN TESTİ

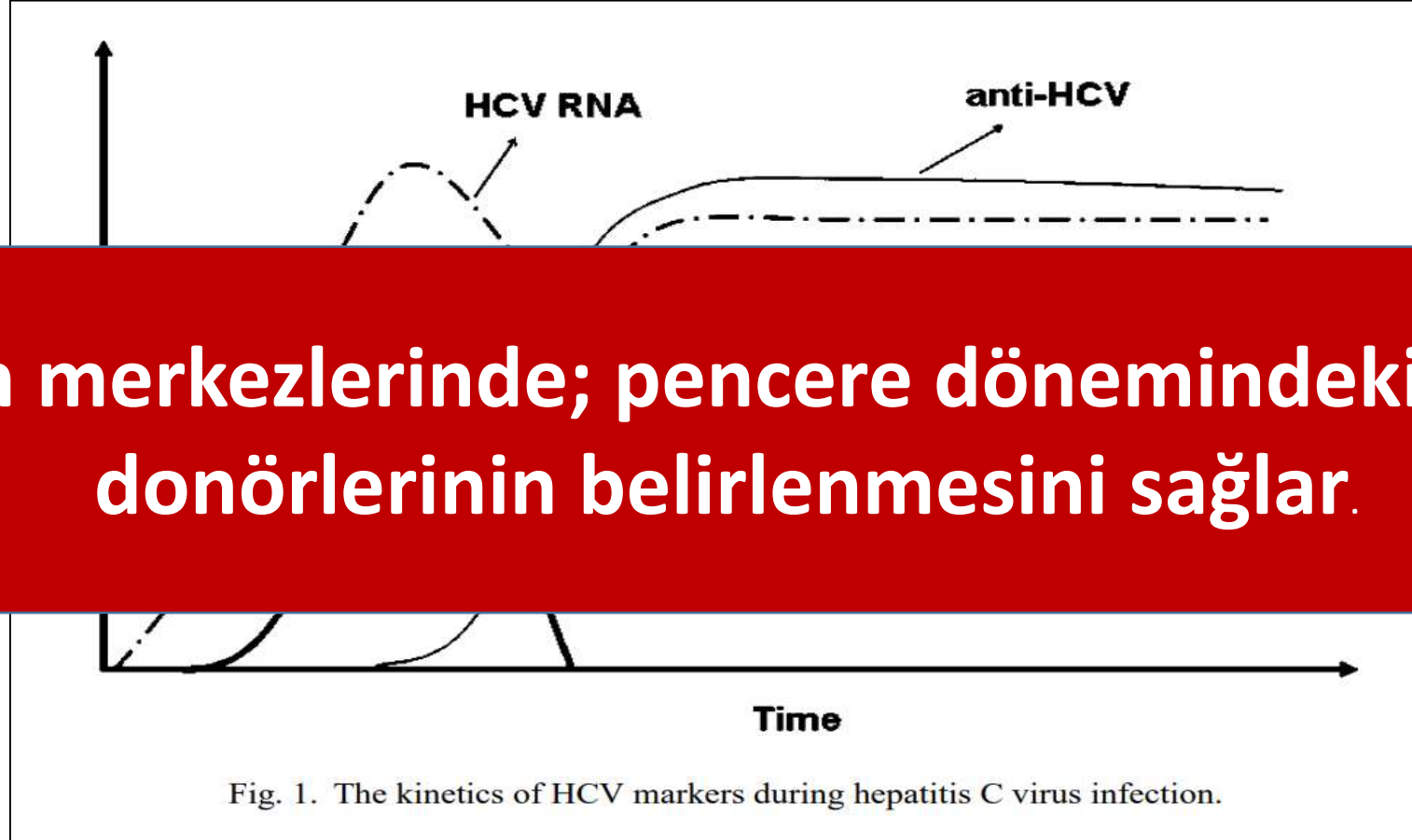
- HCV ile enfekte hastaların serumunda viral parçacığın kor proteinini (kor antijen) tespit eden immunoassay formatında çalışılan testlerdir.
- Enfeksiyonun pencere döneminde HCV antikorlarından önce salınarak viral replikasyonu gösterir.
- Özgül monoklonal antikorlar aracılığıyla HCV kor antijenleri saptanabilmektedir.
- Moleküler testlere göre çalışılması daha kolay ve ucuzdur.
- Tüm genotiplerde kullanılabilir. (Gp 4-5-6'da performansı yetersiz)



- ✓ HCV kor antijen düzeyleri, HCV-RNA düzeyleri ile korele bulunmuştur.
- ✓ Bu nedenle, DSÖ sınırlı kaynağa sahip ülkelerde, nükleik testlerin yerine HCV kor antijen testlerinin kullanılmasını önermiştir.
- ✓ Ancak duyarlılığı moleküler testlere göre biraz düşük!
(Alt saptama sınırı <1000 IU/mL)



HCV kor antijeni, HCV antikorlarından 30-40 gün kadar önce, HCV RNA'dan ise birkaç gün sonra pozitifleşmektedir.



Moleküler Testler

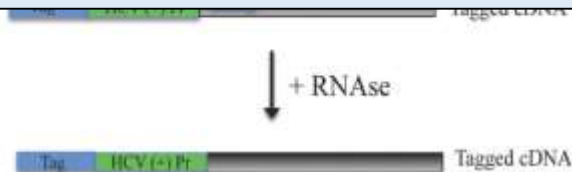
- HCV-RNA testi, HCV enfeksiyonunun tanısı için en duyarlı ve **altın standart** yöntemdir.
- HCV RNA temastan günler (ortalama 1-2 hafta, maksimum 8 hafta) içinde PCR yöntemi ile saptanabilir.
- HCV-RNA testi;
 - Aktif enfeksiyon varlığını kanıtlamak
 - Tedavi öncesi hastanın bazal viral yükünü belirlemek
 - Hastanın tedavi altında iken tedaviye yanıtını gözlemek
 - Kalıcı Virolojik Yanıt gelişimini takip etmek için kullanılır.

HCV-RNA

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR)

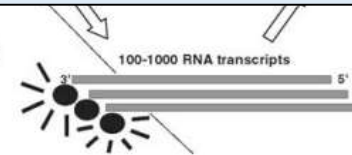
Transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TAM)

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR)
HCV-RNA saptanmasında referans kabul edilen metoddur.
(Ulusal rehberimiz, DSÖ, EASL, AASLD)



3. Target detection

Detection of target amplicons (HCV RNA and internal control) by hybridization protection assay



amplicon and reinitiates synthesis double stranded cDNA template including T7-promotor sequence

Table 3 Hepatitis C virus-RNA quantitative assays approved for *in vitro* diagnostics

Assay and manufacturer	Method	Reaction sample volume (μL)	Lower limit of detection (IU/mL)	Linear range of quantification (IU/mL)	Instrumentation for automated processing	IVD registration
Abbott RealTime HCV, Abbott Molecular	Real-time RT-PCR	500	12	12 - (1×10^8)	m2000sp (extraction and assay setup), m2000rt (amplification and detection)	CE, FDA
artus HCV RG RT-PCR Kit, Qiagen	Real-time RT-PCR	500	34	65 - (1×10^6)	Manual extraction (QIAamp DSP Virus Kit) and assay setup, Rotor-Gene Q (amplification and detection)	CE
artus HCV QS-RGQ Kit, Qiagen	Real-time RT-PCR	1000	21	35 - (1.77×10^7)	QIASymphony RGQ: QIASymphony SP (extraction), QIASymphony AS (assay setup), Rotor-Gene Q (amplification and detection)	CE
COBAS [®] AmpliPrep/COBAS [®] TaqMan [®] HCV Test, Roche Molecular Systems	Real-time RT-PCR	850	15	43 - (6.9×10^7)	COBAS [®] AmpliPrep (extraction), COBAS [®] TaqMan [®] Analyzer or COBAS [®] TaqMan [®] 48 Analyzer (amplification and detection)	CE, FDA, Canada, Japan

Kantitatif Testler:

- ✓ Alt saptama sınırı ≤ 15 IU/mL olmalıdır.
- ✓ DSÖ, HCV-RNA sonuçlarının standart ve karşılaştırılabilir olması için uluslararası ünite (iÜ) olarak bildirilmesini önermektedir (kopya/ml kullanılmamalı, 5.2 kopya/ml=1 IU/ml)

in vitro diagnostic test or device; CE: Conformance Européenne (European Union); FDA: Food and Drug Administration (United States of America); kPCR: Real-time kinetic polymerase chain reaction; bDNA: Branched DNA; RT-PCR: Reverse transcription-polymerase chain reaction.

Table 2 Hepatitis C virus-RNA qualitative assays approved for *in vitro* diagnostics

Assay and manufacturer	Method	Reaction sample volume (μ L)	Lower limit of detection (IU/mL)	Instrumentation for automated processing	IVD registration
COBAS [®] AMPLICOR HCV Test v2.0, Roche Molecular Systems	RT-PCR	500	50 (plasma) 60 (serum)	COBAS [®] AMPLICOR [®] Analyzer (amplification and detection)	CE, FDA, Japan, Canada
COBAS [®] AmpliPrep/COBAS [®] AMPLICOR HCV Test v2.0, Roche Molecular Systems	RT-PCR	250	50 (plasma) 60 (serum)	COBAS [®] AmpliPrep (extraction), COBAS [®] AMPLICOR [®] Analyzer (amplification and detection)	CE, FDA, Canada
COBAS [®] AmpliPrep/COBAS [®] TaqMan [®] HCV Qualitative Assay v2.0, Roche Molecular Systems	RT-PCR	250	50 (plasma) 60 (serum)	COBAS [®] AmpliPrep (extraction), COBAS [®] TaqMan [®] HCV Qualitative Assay v2.0 (detection)	CE, FDA, Canada
APTIMA HCV RNA Qualitative Assay ¹ , Hologic - Gen-Probe	RT-PCR	250	50 (plasma) 60 (serum)	COBAS [®] AmpliPrep (extraction), APTIMA HCV RNA Qualitative Assay (detection)	FDA
VERSANT [®] HCV RNA Qualitative Assay, Siemens	RT-PCR	250	50 (plasma) 60 (serum)	VERSANT [®] HCV RNA Qualitative Assay (detection)	CE, FDA

Kalitatif Testler:

- ✓ Aktif viremiyi gösterir
- ✓ **Pozitif ve negatif** şekilde sonuç verir.
- ✓ Alt saptama sınırı <1000 IU/mL olmalıdır.
- ✓ DSÖ sınırlı kaynağa sahip ülkelerde önermekte

¹The performance of the assay or device; CE: Conformity with CE mark; PCR: polymerase chain reaction; MM: Master mix.

as *in vitro* diagnostic test
: Reverse transcription-

Hızlı Testler [point-of-care (PoC), rapid test, self-testing]

- ✓ Hızlı Antikor Testi
- ✓ Hızlı Antijen Testi
- ✓ Hızlı Moleküler Test

- HCV için orta-yüksek endemik ve düşük-orta gelirli ülkelerde kullanımı önerilmektedir.
- En yaygın kullanılan hızlı test;
 - Hızlı antikor
- Hızlı HCV core antijen testi henüz yeterince duyarlı metod yok

Hızlı Antikor Testi

OraQuick HCV Rapid Test How to Run the Test



- Lateral flow yöntemi ile anti-HCV antikorları saptanır
- Venöz kan, parmak ucu kan ve kuru kan, serum, plazma veya tükürükten çalışılabilir.
- Tüm genotipler tespit edilebilir
- Kanda;
 - duyarlılığı %99.3
 - özgüllüğü %99.5
- Oral sıvılarda;
 - duyarlılığı %97.8
 - özgüllüğü %100

Hızlı moleküler testler

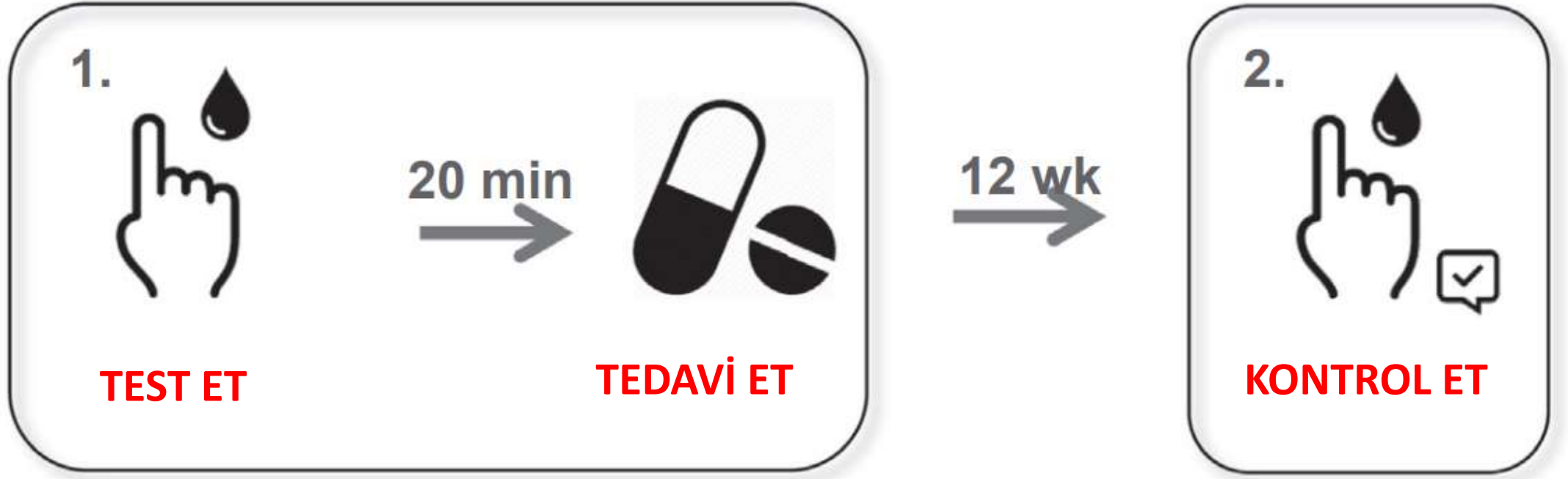
- Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) metodu kullanılmaktadır.
 - Xpert® HCV viral load duyarlılık ve özgüllük %100
 - Tempo Pilot çalışması

Finger-stick testing for HCV RNA detection



- Relatively easy-to-use point-of-care HCV RNA test – GeneXpert in many LMIC
- Real-world performance for HCV RNA quantification very good
 - Venepuncture HCV Viral Load – Sensitivity – 99%, Specificity 96%¹
 - Modified finger-stick assay – Sensitivity – 98%, Specificity 99%²
 - Xpert® HCV Viral Load Fingerstick - Sensitivity – 100%, Specificity 100%³
- One step closer to a single-visit diagnosis

Halk sağlığı açısından bakıldığında, HCV tanısı ve tedavisi yalnızca iki hasta vizitinde tamamlanabilir.



Applegate TL, Fajardo E, Sacks JA. Hepatitis C Virus Diagnosis and the Holy Grail. Infect Dis Clin North Am. 2018 Jun;32(2):425-445.

HCV Refleks Test Uygulaması

- Laboratuvar tabanlı HCV RNA refleks testi, HCV testinin geleceğidir!
- İki aşamalı test metodu, hastaların takipten düşmesine neden olabilmektedir.
- İki test arasındaki hastaları kaybetmemek adına "**DSÖ tek tüp kanla tanı konulmasını**" benimseyerek laboratuvar temelli refleks testlerin uygulanmasını önermektedir.
- Bu sayede hasta ile tek klinik karşılaşma, tek seferlik kan alımı ve tek tüple önce Anti-HCV çalışılması, pozitif saptanması halinde HCV-RNA çalışılması ile hastaların kaybedilmemesi hedeflenmiştir.



Refleks Test? Reflektif Test?

Refleks Test: Hasta numunesindeki ilk sonuçlara göre belli algoritmalar kapsamında yeni test(ler)in otomatik olarak eklenmesi işlemi refleks test uygulamasıdır. Refleks test, ilgili kurum/kuruluş yönetiminin bilgisi dâhilinde uygulanır.

Reflektif Test: Hasta numunesindeki sonuçlara göre, hastanın diğer klinik ve laboratuvar bilgileri de değerlendirilerek, klinisyenin bilgisi dâhilinde, aynı hasta numunesinde yeni testlerin çalışılması işlemi reflektif test uygulamasıdır.

prognoz öngörüsü amacı ile insana ait biyolojik numunelerin veya dolaylı olarak ilişkili olduğu

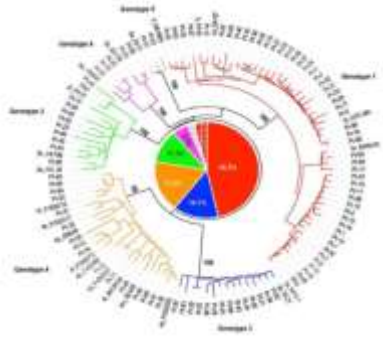
• **İlk vizitte vireminin doğrulanması için hızlı tanı testlerinin ve refleks test uygulamasının kullanılması,**

- ✓ Hastaların takipten düşmesini önler.
- ✓ Hastalar aynı gün tedavi altına alınarak tanı ve tedavi oranlarında iyileşme sağlanır.

Optimizing HCV linkage to care: Experiences implementing laboratory-based reflex testing

Hep Test webinar series
27 January 2022





GENOTİP TESTİ

- Hindistan'da tespit edilen son genotip ile birlikte HCV'nin doğrulanmış 8 genotip ve 86 subtipi mevcuttur.
 - Genotip 1,2,3,4...
 - Subtip a,b,c,d...
- Dünyada baskın genotip 1, **ülkemizde genotip 1b**
- Genotip hastalık şiddeti ile ilişkili değil, tedaviye yanıt ile ilişkilidir.
- KHC tanısı almış hastalarda;
 - Tedavi rejimi, dozlama ve tedavi süresi genotipler arasında değişiklik gösterebilir.
 - Pangenotipik HCV ilaç rejimleri sayesinde genotip ve subtip analizi yapılmaksına gerek yoktur

Kimlerde genotip analizi yapalım?

- Tedavi başarısızlığı öyküsü olanlarda
- Sirotik hastalarda tedavi öncesi
- Pangenotipik tedavi seçeneklerinin olmadığı durumlarda
- Tedaviye az duyarlı veya doğal dirençli subtiplerle infeksiyon düşünülüyorsa

tedavi seçimi, süresi ve tedaviye yanıt olasılığını belirlemek için tedavi öncesinde genotip ve subtip analizi yapılması önerilmektedir...

Table 4 Hepatitis C virus genotyping assays approved for *in vitro* diagnostics

Assay and manufacturer	Method	Reaction sample volume (μL)	Lower limit of detection (IU/mL)	Target	Instrumentation	IVD registration
Abbott HCV Genotype II, Abbott Molecular	Real-time RT-PCR	500	500	5'UTR NS5B	m2000sp (extraction and assay setup), m2000rt (amplification and detection)	CE, FDA
LINEAR ARRAY Hepatitis C Virus Genotyping Test, Roche Molecular Systems	RT-PCR and hybridization	200	500	5'UTR	AMPLICOR® and COBAS® AMPLICOR HCV Test v2.0 (amplification and detection). Manual hybridization.	CE
VERSANT HCV Genotype 2.0 Assay Line Probe Assay (LiPA), Siemens	RT-PCR and hybridization	500-1000	2000	5'UTR core	Conventional PCR instrument, Auto-LiPA 48 or AutoBlot 3000H automated Systems	CE

Genom bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak dizi analizinin yapılması altın standarttır.

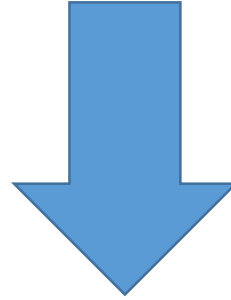
IVD: Certif
America); F

stration (United States of

HCV DİRENÇ TESTİ

- DAA ilaç tedavileri sırasında vahşi suşlar kaybolmakta ve HCV genomunun farklı bölgelerinde yer alan aminoasitlerde mutasyonlar oluşabilmektedir.
- Bu mutasyonların bulunduğu aminoasit bölgesine RAS (resistance-associated substitutions) adı verilir
- Klinikte kullanılan tüm DAA ilaçlar için in vitro RAS bölgeleri tanımlanmıştır.
 - En yaygın görülen NS3 ve NS5A RAS'larıdır.
(hata eğilimli HCV RNA polimeraz nedeniyle kendiliğinden ortaya çıkıp tedavi öncesinde var olabilir.)
 - NS5B RAS'ları çok nadir görülür.

- Ülkemizde HCV'de DAA ilaç direnci hakkında veriler çok kısıtlı
 - KLİMİK VHÇG 2013 (%6-15)
- Türkiye popülasyonunda HCV RAS sıklığı düşüklüğü
- RAS testini yapabilecek merkez sayısının azlığı
- Testin geri ödeme kapsamında olmaması
- Tedavi öncesi RAS tanımlansa bile KVV oranlarının çok fazla etkilenmemesi



Tedavi naif hastalarda DAA ilaçlarla tedaviden önce rutin direnç testi önerilmemektedir...

Kimlerde direnç testi yapalım?

- Kombinasyon DAA tedavisi başarısız olan hastalara
 - NS3, NS5B ve NS5A RAS'ları için direnç testi yapılmalı...
- Tedavi deneyimli Genotip-3 SOF/VEL vereceksek
 - Ribavirin ekleyelim mi eklemeyelim mi?
- Tedavi naif hastalarda direnç testi tedavi rejimini veya tedavi süresini değiştirecekse
 - Genotip 1a grazoprevir/elbasvir vereceksek

HCV DİRENÇ TESTİ

- Direnç testleri HCV genomunun doğrudan dizilenmesini içerir ve HCV sekanslaması sayesinde, **nüks ile reenfeksiyonun** ayırt edilmesine olanak sağlar.
- HCV direncini tespit etmek için standardize edilmiş ve onaylanmış tek bir test kiti mevcuttur; yarı otomatik ve derin dizilemeye dayalıdır.
- Alternatif direnç testi, popülasyon dizilimine (Sanger dizilimi) veya derin dizilime dayalı tekniklere dayanır.

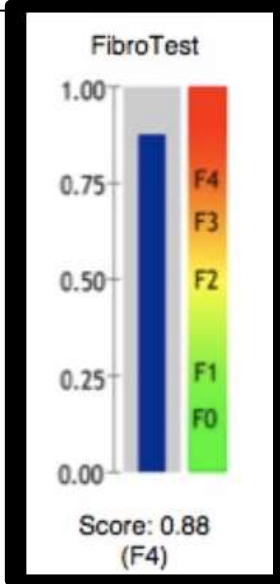
Diğer Testler...

- Hastalık şiddetinin değerlendirilmesi için yapılan testler
 - Rutin kan testleri
 - (ALT, AST, ALP, albümin, bilirubin, INR, trombosit sayısı)
 - Karaciğer Fibrozisinin Belirlenmesi
 - Non-invaziv fibrozis biyobelirteçleri
 - Karaciğer sertliği ölçümü
 - Karaciğer Biyopsisi
 - Kronik HCV hastalarda tedavi öncesi biyopsi yapılması önerilmiyor.
 - Ultrasonografi, Tomografi görüntüleme yöntemleri

Non-İnvaziv Fibrozis Biyobelirteçleri

- APRI
 - AST, Trombosit sayısı
- FIB-4
 - Yaş, AST, ALT, Trombosit sayısı
- Forns Index

- Fibrotest (FibroSure)
 - GGT, bilirubin, haptoglobin, cinsiyet, yaş apolipoprotein-A1, α 2-makroglobulin
 - ALT ikinci aşama hesaplamada kullanılıyor (AktiTest)
- Hepascore

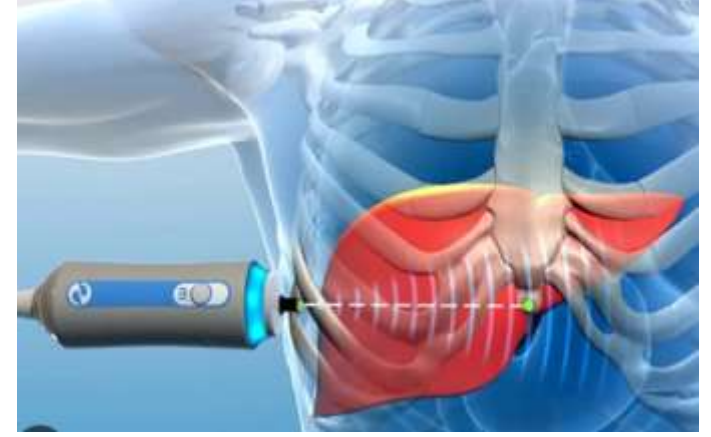


Ülkemiz koşullarında en uygun kullanılabilen
APRI + FIB4 birlikte değerlendirildiğinde %86-%90
doğruluk düzeyine ulaşıyor.

nsiyet

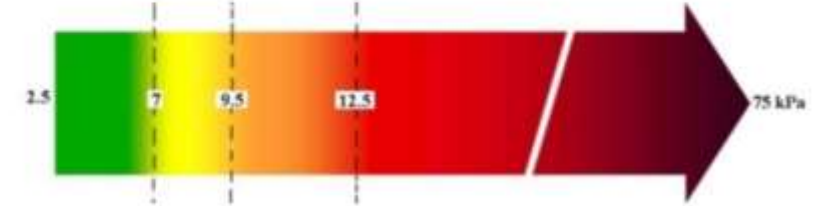
Karaciğer Sertliğinin Ölçümü

- ✓ Transient Elastografi (FibroScan)
- ✓ Vibrasyon Temelli Transient Elastografi (VCTE)



- ✓ Ultrason probu ile düşük frekans ve amplitüdü tireşimler gönderilir; oluşan elastik dalgalar dokuda yayılır
- ✓ Esneklik (elastisite) ve sertlik ölçülür
- ✓ Fibrozis için Kilopascal (kPa) cinsinden sonuç verir
- ✓ Ayrıca CAP skoru da ölçülebilir.
 - ✓ karaciğer yağlanması derecesini belirler.

Liver stiffness cut-offs in chronic liver diseases



Matavir	F0-F1	F2	F3	F4
---------	-------	----	----	----

Fibrosis	Mild	Sign	Severe	Cirrhosis
----------	------	------	--------	-----------

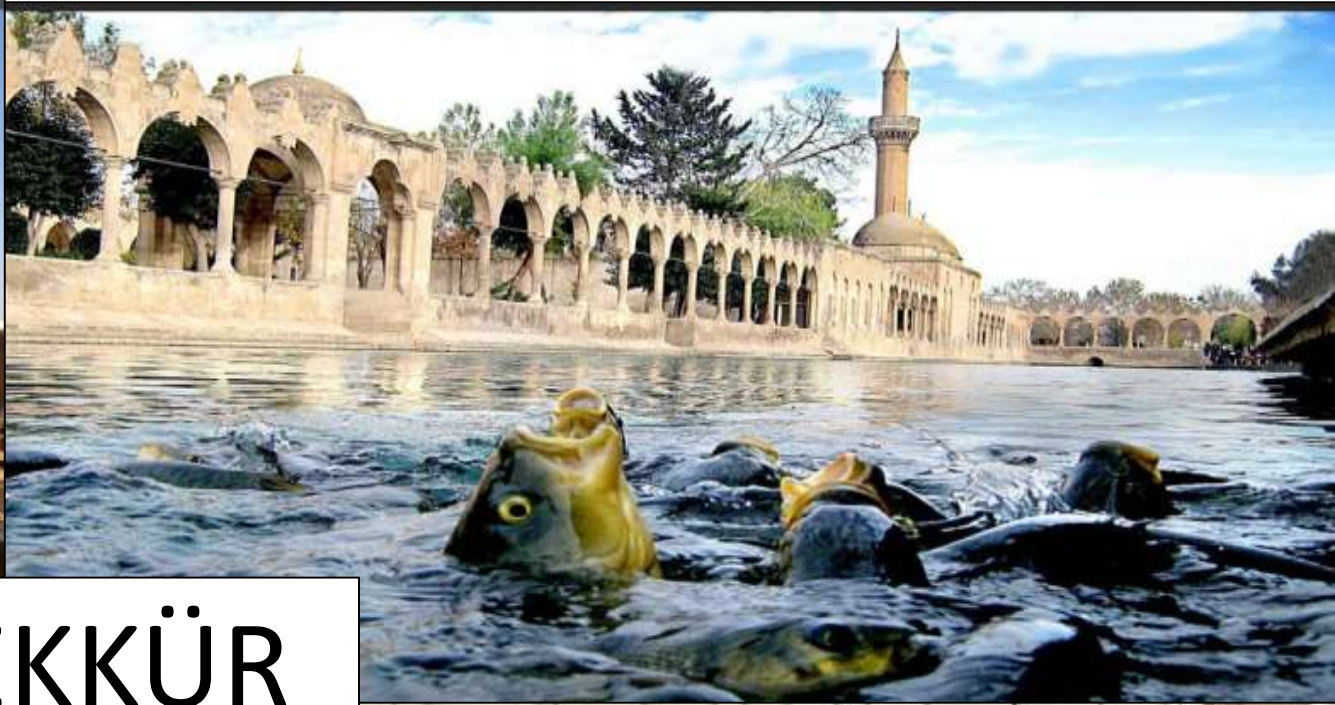


ÖZETLE...

- 18 yaş üzeri her birey ömrü boyunca en az bir defa HCV yönünden taranmalı
- Akut hepatit klinik belirtileri olan veya riskli temas öyküsü olan hastalarda anti-HCV ve HCV RNA testleri yapılmalıdır.
- Pencere döneminde veya immünosüprese kişilerde anti-HCV'nin negatif çıkabileceği unutulmamalı, gerektiğinde HCV RNA testi de yapılmalıdır.
- HCV RNA, alt saptama sınırı <15 İÜ/ml olan hassas moleküler yöntemlerle belirlenmelidir.

ÖZETLE...

- Aktif infeksiyon tanısı için HCV RNA'ya bakılmadığı durumlarda HCV kor antijeni testi kullanılabilir.
- Hızlı testler ve refleks test uygulamaları HCV tanı ve tedavi kaskadını iyileştirmede iyi bir strateji olabilir.
- Pangenotipik antiviraller ile HCV genotip ve subtip analizi yapılmaksızın uygulanabilir;
 - ancak tedavi başarısızlığı öyküsü olanlarda
 - sirotik hastalarda tedavi öncesi genotip ve subtip analizi yapılmalıdır.
- İlk tedavi öncesi rutin HCV direnç testleri önerilmemektedir.



TEŞEKKÜR
EDERİM

