

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TÜKÜRÜKTEN AYRIŞTIRILAN HCV
ANTİKORLARI İLE SERUM HCV-RNA
ARASINDAKİ KORELASYONUN
BELİRLENMESİ**

DR. OYA ÖZLEM EREN KUTSOYLU

DANIŞMANLAR

Prof. Dr. Ayşe Yüce

Öğr. Gör. Uzm. Dr. Ziya KURUÜZÜM

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2009

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TÜKÜRÜKTEN AYRIŞTIRILAN HCV
ANTİKORLARI İLE SERUM HCV-RNA
ARASINDAKİ KORELASYONUN
BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. OYA ÖZLEM EREN KUTSOYLU

DANIŞMANLAR

Prof. Dr. Ayşe YÜCE

Öğr. Gör. Uzm. Dr. Ziya KURUÜZÜM

İZMİR-2009

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 9200895 sayı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR.....	III
TABLO DİZİNİ.....	IV
ŞEKİL DİZİNİ.....	V
RESİM DİZİNİ.....	V
TEŞEKKÜR.....	VI
ÖZET.....	1
İNGİLİZCE İSİM VE ÖZET.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Virusun yapısı.....	4
2.1.1 Taksonomi ve genotipler.....	4
2.1.2. Viral yapı.....	5
2.1.3. Viral hücre döngüsü.....	7
2.1.3.1. Adsorbsiyon ve hücre içine giriş.....	7
2.1.3.2. HCV RNA replikasyonu.....	9
2.1.3.3. Salınım.....	9
2.2. Epidemiyoloji.....	9
2.2.1. Hepatit C Virusunun Prevalansı.....	10
2.2.2. Hepatit C Virus İnfeksiyonunun İnsidansı.....	13
2.2.3. Hepatit C Virusunun Bulaş Şekilleri.....	13
2.2.3.1. Parenteral bulaş.....	14
2.2.3.2. Anneden bebeğe geçiş.....	16
2.2.3.3. Cinsel yolla bulaş.....	16
2.3. Patogenez.....	17
2.3.1. Viral Persistans.....	17
2.3.2. Sıvısal Bağışıklık.....	18
2.3.3. Hücresel Bağışıklık.....	18
2.3.4. Persistans Mekanizmaları.....	18
2.3.5. Hastalık Progresyonu.....	19
2.3.6. Hepatik Fibrozis.....	20
2.3.7. Hepatosellüler karsinom (HSK).....	21

2.4. Klinik	21
2.4.1. Akut Hepatit C.....	21
2.4.2. Kronik Hepatit C.....	23
2.5. Tanı	28
2.5.1. Seroloji.....	28
2.5.2. Tamamlayıcı, konfirmasyon testleri.....	28
2.5.3. Pencere dönemi sorunu ve yeni testler.....	29
2.5.4. Nükleik asit testleri.....	29
2.5.4.1. Kalitatif testler.....	29
2.5.4.2. HCV RNA miktarının belirlenmesi.....	30
2.5.5. Genotip Testleri	32
2.6. Sağaltım	34
2.6.1 Viral yanıt şekilleri.....	36
2.6.2. Kombinasyon sağaltımı.....	37
2.6.3. Yeni sağaltım seçenekleri.....	39
2.6.3.1. Proteaz inhibitörleri.....	39
2.6.3.2. Polimeraz inhibitörleri.....	39
2.6.6. Yan etkiler ve izlem.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	41
3.1. Örneklem grubu.....	41
3.2. Örnek toplanması.....	41
3.2.1. Tükürük örneklerinin toplanması.....	41
3.2.2 Kan örneklerinin toplanması.....	42
3.3. Laboratuvar yöntemi.....	42
3.4. İstatiksel yöntem.....	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
7.KAYNAKLAR	58
Ek-1. Gönüllü Bilgilendirme Formu	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EIA	Enzyme Immune Assay
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EVY	Erken virolojik yanıt
FDA	Food and Drug Administration
HBV	Hepatit B virusu
HCV	Hepatit C Virusu
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA	Human leucocyte antigen
HRV	Hypervariable Region 'değişken bölge'
HSK	Hepatosellüler karsinom
HVY	Hızlı virolojik yanıt
Ig	İmmunglobulin
IVIG	İntravenöz immunglobulin
KVY	Kalıcı viral yanıt
LD	Lipid Droplets
NK	Naturel Killer
NTR	Non-translated region
PEG-IFN	Pegile interferon
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
RT	Real Time
TGF-β	Tumor Growth Factor-β

.TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Ülkemizde çeşitli gruplarda anti-HCV seroprevalansı.....	12
Tablo 2: İshak aktivite indeksi.....	26
Tablo 3: Histolojik evreleme sistemlerinin karşılaştırılması.....	27
Tablo 4:Ticari kalitatif nükleik asit testleri (NAT).....	30
Tablo 5: Ticari kantitatif NAT'lar.....	31
Tablo 6: Genotiplleme testleri.....	33
Tablo 7: Sağaltıma kabul edilecek hastaların özellikleri.....	34
Tablo 8: Bireysel olarak değerlendirilip sağaltım kararı verilecek olan hastalar.....	35
Tablo 9: Sağaltımın kontrendike olduğu durumlar.....	35
Tablo 10: Hasta grubunun özellikleri.....	44
Tablo 11: Kontrol grubunun özellikleri.....	46
Tablo 12: Hasta grubunun Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA ile değerlendirilmiş tükürük örneklerinin sonuçları	49
Tablo 13: Kontrol grubunun Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA ile değerlendirilmiş tükürük örneklerinin sonuçları.....	49
Tablo 14: Tüm olguların serum ve tükürük anti-HCV sonuçları.....	51
Tablo 15: Hasta grubunun serumdaki HCV-RNA ve tükürük anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması.....	51
Tablo 16. Kullanılan testlerin istatistiksel anlamları.....	51

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: HCV'nin genotipik dağılımı.....	5
Şekil 2: Hepatit C virusunun genom organizasyonu. Virusun RNA'sı ve kodladığı proteinler.....	6
Şekil 3: HCV'nin hücre içi ve hücre dışı yaşam döngüsü.....	8
Şekil 4: Dünyadaki HCV prevalansı.....	10
Şekil 5: HCV RNA testlerinin kantitasyon aralıklarının karşılaştırılması.....	32
Şekil 6: HCV genotiplerinin tersine hibridizasyon yöntemine dayalı 'line probe assay' (LIPA) ile belirlenmesi.....	33
Şekil 7: Sağaltım sırasında oluşan virolojik yanıt tipleri.....	36
Şekil 8: İki Randomize çalışmada peginterferon ve ribavirin rejimi ile oluşan virolojik yanıt.....	38

RESİM DİZİNİ

Resim 1. 'Biotène Dry Mouth Care Pak • seti içinde steril şekilde bulunan sünger çubuk.....	42
Resim 2. Hasta grubunun Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA ile tükürük örneklerinin değerlendirilmesi.....	50
Resim 3. Kontrol grubunun Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA ile tükürük örneklerinin değerlendirilmesi.....	50

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini sakınmadan bizlerle paylaşan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ayşe YÜCE, Sayın Prof. Dr. Nedim ÇAKIR, Sayın Doç. Dr. Nur YAPAR, Sayın Doç. Dr. Vildan AVKAN OĞUZ, Sayın Öğr. Gör. Uzm. Dr. Ziya KURUÜZÜM'e;

Tez verilerimin değerlendirilmesinde emeği geçen Sayın Prof. Dr. Reyhan UÇKU'ya;

Tez çalışmamda desteğinden dolayı seroloji laboratuvarı görevlisi başta Arzu Savaşçı Sayılı olmak üzere tüm seroloji ve PCR laboratuvarı çalışanlarına;

Uzmanlık eğitimimde aynı yolda ilerlediğim uzman ve asistan arkadaşlarıma;

Tüm İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı hemşire, sekreter ve personeline;

Meslek hayatımın zorlu evrelerinde her zaman yanımda olan, anlayış ve desteklerini eksik etmeyen canım annem ve babama;

Hayatıma renk katan sevgili eşim ve oğluma;

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürler...

Dr. Oya Ö. Eren Kutsoylu

ÖZET:

Tükürükten Ayırıştırılan HCV Antikorları ile Serum HCV-RNA Arasındaki Korelasyonun Belirlenmesi

EREN-KUTSOYLU Oya Özlem ,Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. ,35340 İnciraltı/İzmir

Amac: Tükürükte Hepatit C virusuna(HCV) karşı bulunan antikorlar ile kandaki HCV-RNA ve antikorları arasındaki ilişkiyi araştırmak ve epidemiyolojik çalışmalar ön planda olmak üzere saha çalışmalarında bu yöntemin kullanılabilirliğini saptamaktır.

Gereç ve Yöntem: Polikliniğimize başvuran 75 anti-HCV(+) ve 75 anti-HCV(-) olgunun tükürük ve kan örnekleri alındı. Tükürük almak için çeşitli ticari kitler yerine hastaların ağız bakımı için geliştirilmiş olan sünger çubuklar kullanıldı. Alınan örnekler modifiye Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA(Ortho Clinical Diagnostics, US) kiti ile çalışıldı. Kan örnekleri ise uygun koşullarda alınıp anti-HCV ve HCV-RNA tetkikleri çalışılmak üzere hastanemiz merkez laboratuvarına gönderildi.

Bulgular: Çalışılan 75 anti-HCV(+) hastanın otuzsekizinde(%50,7) HCV-RNA(+), 65(%86,7)'inde tükürük anti-HCV(+) saptandı. Kontrol grubundaki 75 olgudan onunun(%13,3) tükürüğünde anti-HCV(+) saptandı. Serum anti-HCV altın standart olarak kabul edildiğinde tükürük anti-HCV duyarlılığı %86,7 ve seçiciliği %86,7 olarak sonuçlandı. HCV-RNA(+) olan 38 hastanın 36(%94,7)'sında tükürük anti-HCV(+) bulundu. HCV-RNA düzeyi altın standart olarak kabul edildiğinde ise bu testin duyarlılığı %94,7 olarak sonuçlandı.

Sonuc: Anti-HCV'nin tükürükte araştırılması oldukça yeni bir tanı yöntemi olup tükürük örneğinin alınması kolay, acısız, hızlı ve daha az teknik ekipman gerektiren bir yöntemdir. Non invaziv bir teknik olması, bulaş riski oluşturmaması, eğitimli personele ihtiyaç duyulmadan kişinin kendi kendine örnek almasına olanak tanınması bu tekniği saha çalışmalarını için çekici kılmaktadır. Çalışmamızın duyarlılık ve seçicilik sonuçlarına göre bu yöntem epidemiyolojik araştırmalarda kullanılmaya aday alternatif bir tekniktir. Ülkemizde bu konu ile ilgili yapılan araştırma olmaması, ayrıca hazır tükürük alma kiti kullanılmadan yapılan ilk araştırma olması nedeniyle de ayrı bir yeri bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C virusu, duyarlılık testleri, tükürük

SUMMARY:

Correlation Between Detection of Hepatitis C Virus Antibodies in Saliva and Hepatitis C Virus RNA in Serum

EREN-KUTSOYLU Oya Özlem, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Department, 35340, Inciralti/Izmir/Turkey

Purpose: To define the correlation between hepatitis C virus antibodies in saliva and hepatitis C virus antibodies and RNA in serum, and to evaluate the use of this technique in epidemiologic studies.

Materials and methods: Blood and saliva samples were obtained from 75 anti-HCV(+) and 75 anti-HCV(-) participants when visiting our clinic. Although there are several saliva collection devices, we used oral swabs which are used for patients with dry mouth problem. Detection of the HCV antibodies was performed using Ortho HCV 3.0 SAvE ELISA. Blood samples were analyzed for anti-HCV and HCV-RNA in our hospital laboratory.

Results: Out of 75 anti HCV(+) patients 38 serum samples found positive for HCV-RNA and 65 oral fluid samples were anti-HCV(+). The control group of 75 anti-HCV(-) serum samples, ten had corresponding oral fluid samples that were HCV antibody-positive, 65 were HCV antibody-negative. It yielded a sensitivity and specificity of 86.7% and 85.3%, respectively. Thirty eight participants who were positive for HCV-RNA, 36 of them were also positive for HCV antibodies in oral fluid. Analyzing the results, a significant correlation between the detection of HCV antibodies in oral fluid and HCV-RNA in serum was obtained with a sensitivity of 94.7%.

Conclusion: The implementation of a non-invasive method such as saliva collection is easy and less expensive to perform than venipuncture, and can be done by unskilled personnel. According to our sensitivity and specificity results, this technique is an alternative for the epidemiological studies.

Key words: Hepatitis C virus, susceptibility testing, saliva

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hepatit C hastalığının, 1989 yılına dek keşfedilmemiş bir virustan kaynaklandığı saptanmıştır. Söz konusu hastalığın insanlara en sık kan teması yoluyla bulaştığı bilinmekle birlikte nadir de olsa cinsel yol ile de bulaştığı gözlenmiştir. Hepatit C virusu (HCV) yaygın bir virüstür ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tüm dünyada 170 milyon kişinin bu virus ile enfekte olduğunu hesaplamıştır. Kişiler genelde hepatit C hastalığına enfekte kan veya kan ürünlerinin kullanımıyla (özellikle 1991 yılından önce), traş makinası, jilet, makas ve diş fırçası gibi kişisel bakım gereçlerinin ortak kullanılmasıyla, yeterince iyi sterilize edilmemiş ekipmanın kullanıldığı tıbbi ya da tıbbi olmayan durumlarla (ilaç/uyuşturucu enjekte ederken enfekte iğnelerin ortak kullanılması, iğne batma kazası, diş sağıltımı, sterilize edilmemiş dövme, vücut deldirme ekipmanı) ya da kanamaya yol açan yüksek riskli cinsel aktivitelerle yakalanabilmektedirler. Nadir olarak anneden bebeğe de bulaş olabilmektedir. Ancak hepatit C hastaları bulaş açısından irdelendiğinde birçok hastada bulaş yolu saptanamamaktadır.

Başlangıçtaki infeksiyondan sonraki kısa dönem (sıklıkla 6 ay) hastalığın akut fazı olarak adlandırılır. Bazı kişiler bu dönemde (yaklaşık %15–30) virusu kendi başlarına, sağıltımsız eradike edebilmektedirler. Ancak çoğu kişi virusu akut fazda uzaklaştırılmaz ve hastalık kronik faza ilerler. Bu andan sonra virusu sağıltımsız eradike edebilme olasılığı çok düşüktür.

Kanda antikor saptanması hastalığın olduğu anlamına gelmez, virus ile karşılaşıldığını ya da yalancı pozitifliği gösterir. Kanda yapılan bir polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi ile virusa hala var olup olmadığı gösterilir. HCV- ribonükleik asit (HCV-RNA) pozitifliğinin tespit edilmesi, HCV enfeksiyonunu göstermede altın standart yöntemdir.

Hepatit C virusu tükürük de dahil tüm vücut salgılarında bulunmaktadır.¹ Oral sıvılar, epidemiyolojik amaçlarla, özellikle kan alımının zor olduğu durumlarda (çocuklar, hemodiyaliz hastaları, damar içi ilaç kullanımı olanlar, obez kişiler), saha çalışmalarında ve klinik olmayan yerlerde (eğitilmiş personele ihtiyaç yoktur) örneklem yapılması kolay vücut salgılarıdır. Tükürük toplanması hem invazif olmayan bir yöntemdir hem de maliyet etkindir.

Bu çalışmadaki amaç, tükürükte hepatit C virusuna karşı bulunan antikorlar ile kandaki hepatit C virus RNA'sı arasındaki ilişkiyi araştırmak ve epidemiyolojik çalışmalar başta olmak üzere saha çalışmalarında bu yöntemin kullanılabilirliğini ve geçerliliğini saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Hepatit A ve hepatit B virusu için 1970’li yıllarda serolojik testler geliştirildikten sonra transfüzyon sonrası oluşan hepatit infeksiyonlarının başka bir etken tarafından meydana getirildiği şüphesi oluşmuştur. “non-A, non-B hepatiti” olarak adlandırılan etkenin tanımlanması başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Şempanzelerde yapılan çalışmalar kan kaynaklı non-A, non-B hepatitinin bulaşıcı olduğunu ve nispeten küçük, lipid zarflı bir virus tarafından oluştuğunu ispatlamışlardır. 1980’li yılların sonunda non-A, non-B hepatiti ile ilişkisi olan viral kodlanmış antijen içeren ajan bulunmuş ve bu ajana “hepatit C virusu” adı verilmiştir.

Bu buluşun ardından hızla virusun moleküler yapısı, persistan infeksiyon oluşturma eğilimi ve kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinom ile güçlü ilişkisi saptanmıştır.

Hepatit C virusu transfüzyon sonrası gelişen ve toplumlarda sporadik olarak görülen non-A, non-B hepatitlerin birincil etkenidir. HCV infeksiyonlarından sonra kronikleşme oranı %80’e kadar ulaşmaktadır. Hastaların çoğunda kronikleşmeyi siroz ve hepatosellüler karsinom gibi komplikasyonlar izlemektedir. Bu nedenle dünyada birçok ülkede hala HCV infeksiyonu oldukça önemli bir halk sağlığı sorunudur.¹

2.1. Virusun Yapısı

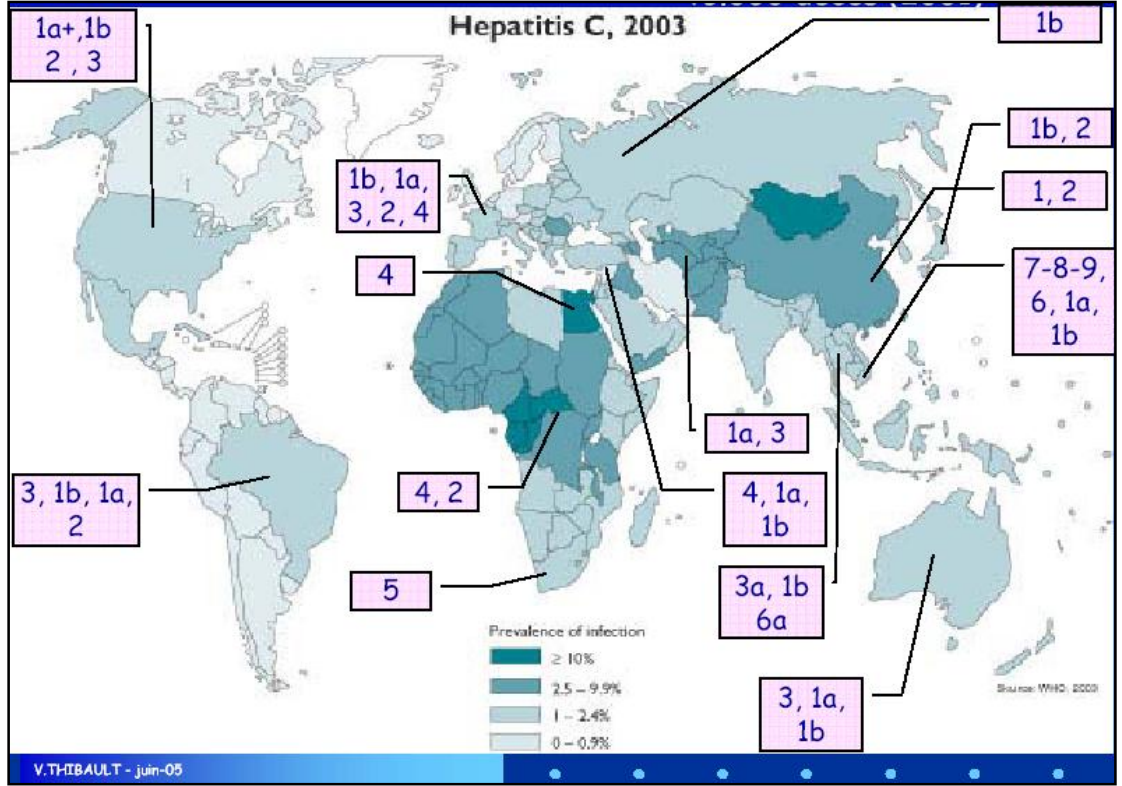
2.1.1. Taksonomi ve genotipler

Hepatit C virusu sferik, lipid zarflı, 50 nm çapında pozitif RNA virusudur. *Flaviviridae* ailesi içinde yer almaktadır. Bu ailede insan filavivirusları ve hayvan pestiviruslarından ayrı olarak GBV-A, GBV-B ve GBV-C virusları ile birlikte ayrı bir cins olarak ele alınması bugün kabul görmekte ve bu dört virus *Hepacivirus* cinsi altında yeni bir grupta yer almaktadır.

Hepatit C virusunun yüksek replikasyon hızı ve hataya yatkın RNA polimerazı HCV suşlarının genetik çeşitliliğinden sorumlu tutulmaktadır. Tek bir kişinin infekte olması dahi HCV suşunun viral çeşitliliğinden dolayı süre geçtikçe farklı ‘quasispecies’ yani türümsülerin oluşmasını belirgin olarak artırmaktadır.²

Farklı coğrafi bölgelerde yaşayan kişilerdeki HCV nükleotid sekanslarının karşılaştırılması sonucunda altı HCV genotipi bulunmuştur. Bu genotiplerin altında da çok sayıda subtipler saptanmıştır.^{3,4} Sekans çeşitliliği genotiplerde %20, subtiplerde ise %30 civarındadır. Genotip 1, 2, 4 ve 5 Sahraaltı Afrika’da bulunurken, genotip 3 ve 6 artmış değişik türlerle güneybatı Asya’da saptanmıştır. Bu durum bu coğrafi bölgelerin değişik

genotiplerin kökeni olduğunu göstermektedir. Son yıllarda Kuzey Amerika, Avrupa ve tropikal olmayan diğer ülkelerde değişik genotiplerle görülen epidemilerin, orijinal HCV endemilerinden kaynaklandığını düşündürmektedir.^{5,6} Epidemiyolojik verilerin yanında HCV genotipleme sağaltım açısından da önem taşımaktadır. Antiviral sağaltım protokolü ve sağaltım süresi ile ilgili farklılıklar bulunmaktadır.

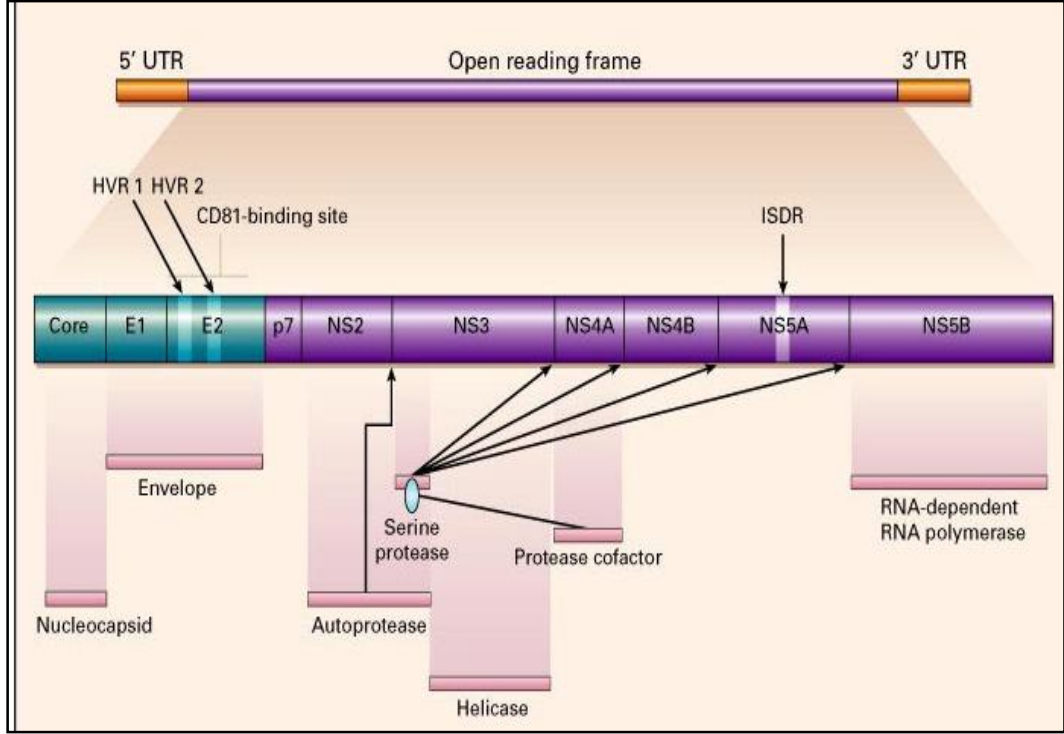


Şekil 1. HCV'nin genotipik dağılımı

2.1.2. Viral Yapı

Virüsün hücre kültürlerinde üretilmesinin zor olması ve elektron mikroskopik görüntü için yeterli düzeyde viryonun bulunmasının ilk koşul olması nedeniyle HCV viryonlarının yapısal analizi kısıtlanmıştır.

HCV ortalama 50 nm büyüklüğünde pozitif iplikli RNA içeren zarflı bir Flavivirustur.⁷ Viral RNA 9379 nükleotidden oluşmaktadır ve 3011 aminoasit içeren bir poliprotein kodlamaktadır. HCV genom organizasyonu Şekil 2'de verilmiştir. Yapısal HCV proteinleri genomun 5' ucundan, yapısal olmayan proteinler ise 3' ucundan kodlanmaktadır. Yaklaşık 3000 aminoasit kodlayarak sentez edildiği saptanmıştır.^{8,9}



Şekil 2. Hepatit C virusunun genom organizasyonu. Virusun RNA'sı ve kodladığı proteinler.

Polipeptit konak hücresel peptidazlar ve viral proteazlar ile 10 viral peptid parçalanmaktadır.¹⁰ Bu proteinler sırasıyla; NH₂-öz(cor)-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOH şeklindedir. Öz, E1 ve E2 proteinleri kapsid ve zarf glikoproteinlerini oluşturmaktadır. Kapsid ve zarf glikoproteinlerinin dışında kalan yapısal olmayan proteinler HCV replikasyonunda rol oynamaktadır. NS3, serin proteaz ve RNA helikaz aktivitesine sahip olup diğer yapısal olmayan proteinleri parçadığı bilinmektedir.¹¹ NS4A'nın NS3 proteaz için bir kofaktör olduğu söylenmektedir.¹² p7, NS4B ve NS5A'nın fonksiyonları halen tam olarak bilinmemekle birlikte NS5A'daki mutasyonun interferona duyarlılıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir.¹³ NS5B de RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır.¹⁴

E2 kodlama bölgesinde HRV-1 ve HRV-2 olmak üzere 2 adet aşırı değişken bölge (*hypervariable region*) saptanmıştır. Aminoasit sekansları %80'e kadar değişiklik göstermektedir.¹⁵ Nötralizan antikorlar için ana hedef E2-HRV1'dir.¹⁶ HRV-1'in zarf proteinlerinin genetik açıdan en değişken bölgesi olduğu bilinmektedir. İnfekte kişilerde

sıklıkla virusun HRV-1 sekansını sunan sentetik peptidlerle reaksiyona giren antikorları bulunmaktadır. Bu antikorlar, daha az etkin olan HRV-1 sekanslarının seçilmesiyle meydana gelen yeni türümsülerin (*quasispecies*) belirmesi ile oluşmaktadır. Bu durum HRV-1'in nötralizan bir epitop içerdiğini ve immün kaçışa neden olan mutasyonların bu şekilde meydana geldiğini göstermektedir.^{16,17} HRV-1, infeksiyon esnasında zarf yapısı içinde hücre reseptörünün algılanmasını sağlayan bölgeler gibi zarf içinde çok iyi şekilde korunmuş yapıları maskeleyerek immunolojik tuzak olarak fonksiyon görebilmektedir.¹⁸ Şempanzelerde bu bölgenin delesyonu ile virusun şempanzeleri infekte etme yeteneğinde azalma olmadığı saptanmıştır. Bu durum da, viral giriş ve salınım için bu bölgenin elzem olmadığını düşündürmektedir.¹⁹

2.1.3. Viral hücre döngüsü

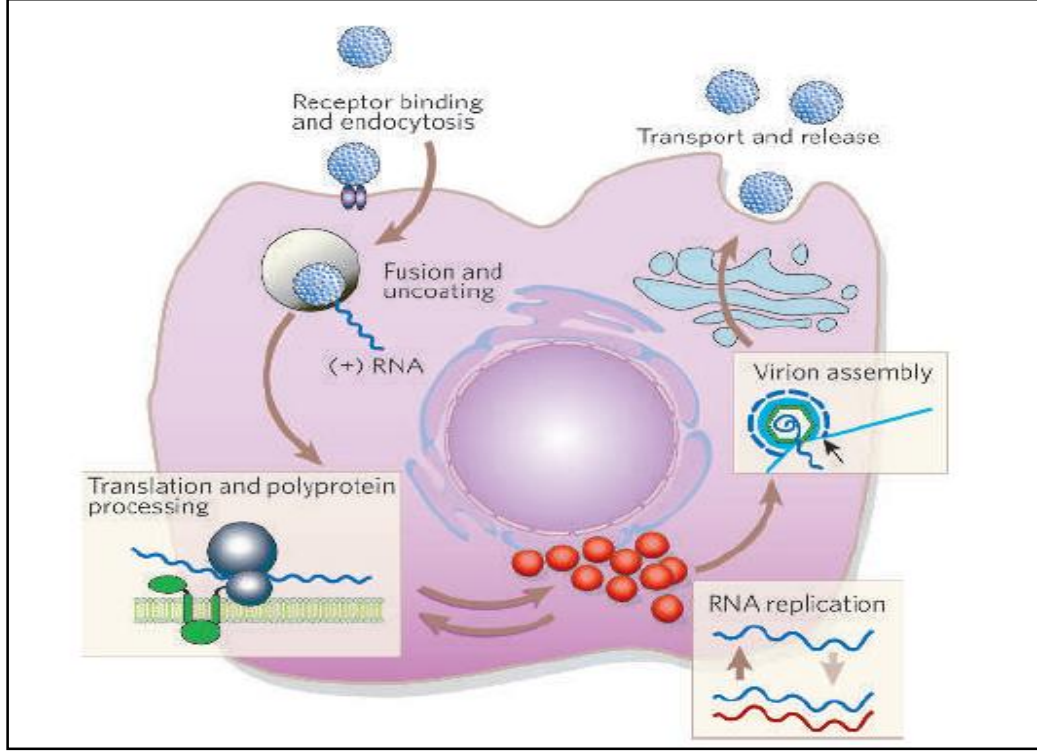
Küçük hayvan modellerinin olmayışı ve etkili *in vitro* HCV replikasyon sisteminin bulunmayışı nedeniyle hepatit C virusunun hücre döngüsünü araştırmak zor olmaktadır. Yeni gelişmeler, viral replikasyonun farklı basamaklarını analiz edebilme imkanı sağlamaktadır. (Şekil.3)

2.1.3.1. Adsorbsiyon ve hücre içine giriş

HCV reseptörü olmaya en uygun aday tetraspanin CD81 gibi gözükmektedir.²⁰ CD81, her yerde bulunan 25 kd'luk bir moleküldür. Hepatositler dahil olmak üzere birçok hücrenin yüzeyinde sunulmaktadır. Deneysel çalışmalar, CD81 molekülüne karşı gelişmiş anti-CD81 antikorlarının Huh-7 hücrelerine ve primer insan hepatositlerine hepatit C virusunun girişini inhibe ettiğini göstermiştir.²¹ Son yıllarda yapılan çalışmalarda, CD81'in tek başına HCV'nin hücre içine girmeye yeterli olmadığı, bazı ko-faktörlere ihtiyaç duyduğu saptanmıştır. Çöpçü reseptör (scavenger receptor) B tip I (SR-BI), bu ko-faktörlerden biridir.²² Bununla birlikte CD81'in bağlanma sonrası basamakta etkili olduğu düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında, HCV infeksiyonunun erken basamaklarını gösteren bir model oluşturulmuştur.

Virusun hücre içine girişinin ana basamağını hedef hücreye tutunma oluşturmaktadır. Bağlanma, büyük olasılıkla E2 zarf proteini ile hedef hücre yüzeyindeki glikozamikan heparan sülfat arasındaki etkileşim sonucu oluşmaktadır. Ayrıca, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) reseptörüne bağlanma yoluyla HCV'nin hepatosit infeksiyonunu başlattığı sanılmaktadır.²³ Hücre kültürlerinde ilk tutunmadan sonra HCV E2 glikoprotein SR-BI ile etkileşmektedir. SR-BI, bir çok memeli hücrelerinin yüzeyinde sunulmaktadır. Bazı çalışmalar,

virusun CD81 ile etkileşimi için SR-BI'e bağlanmasının bir zorunluluk olduğunu öne sürmektedir.



Şekil 3. HCV'nin hücre içi ve hücre dışı döngüsü

Yeni bir hüresel faktör olarak claudin-1 (CLDN1)'in tanımlanmasıyla HCV'nin hücreye girişinin anlaşılması daha da zorlaşmıştır. CLDN1, integral membran proteindir. Bu protein sıkı bağlantı noktalarının belkemiğini oluşturmaktadır ve bol miktarda karaciğerden salgılanmaktadır.²⁴ CLDN1 birleşmesi, HCV-CD81 etkileşimi yönünde olmaktadır. Son çalışmalarda CLDN1 bileşen olarak rol alıp HCV'nin CD81'den bağımsız olarak hücreden hücreye transferini sağladığı saptanmıştır.

Özet olarak, HCV tutunması ve hücre içine girişi çok karmaşık bir prosedür olup, henüz net bir şekilde anlaşılabilmemiştir. Glikoproteinler ile reaksiyona giren çeşitli konak faktörleri bulunmuş olmakla birlikte bu mekanizmaların daha derinlemesine incelenmesi gerekmektedir. SR-BI, CD81 ve CLDN1 sunmasına karşın bazı insan hücreleri HCV enfeksiyonuna duyarlı olmadığı bulunmuştur.^{22,24} Bu durum başka konak faktörlerinin de hücreye girişte etkin olduğunu düşündürmektedir.

2.1.3.2. HCV RNA replikasyonu

HCV-RNA replikasyonu henüz çok az anlaşılmıştır. Replikasyon için anahtar enzim NS5B; RNA-bağımlı RNA polimerazdır (RdRp). HCV replikasyonunda başka hücresel ve viral faktörler de rol almaktadır. Replikasyon kompleks formasyonu için en önemli faktörün NS4B olduğu saptanmıştır.

NS4B, NS5B'nin de dahil olduğu yapısal olmayan proteinleri içeren endoplazmik retikulum bağımlı membranöz zar oluşumunu artırmaktadır.²⁵ Bu zar, replikasyonun diğer basamakları için platform görevi görmektedir. RdRp, daha önce oluşturulan pozitif sarmallı RNA'yı negatif sarmallı RNA oluşturmak için kalıp olarak kullanmaktadır. Negatif sarmallı RNA oluşumunu kolaylaştırmak üzere, NS3 helikaz enzimi kalıp RNA'daki sekonder yapıları çözdüğü bulunmuştur. Daha sonra yine NS3 helikaz eşliğinde antisens RNA molekülleri kalıp görevi görerek pozitif sarmallı RNA sentezi gerçekleşmektedir. En son oluşan RNA, genomik RNA olarak poliprotein translasyonunda kullanılmaktadır.

2.1.3.3. Salınım

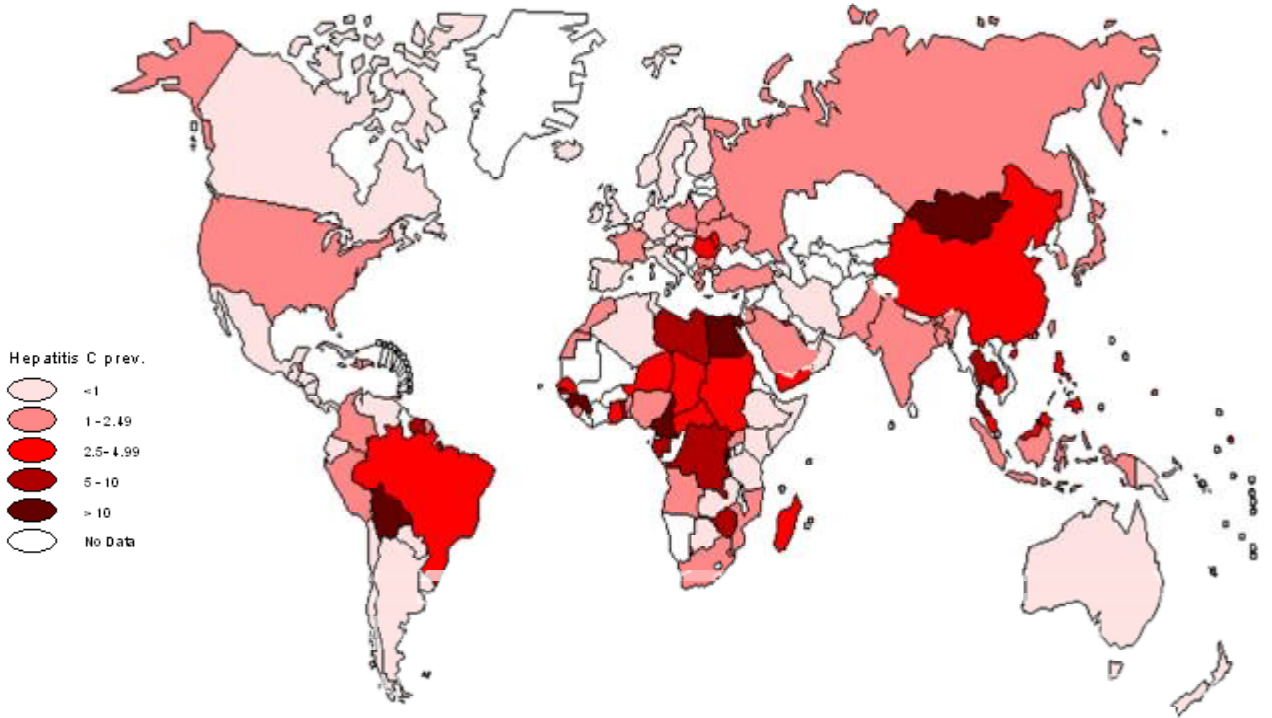
İnfeksiyöz viryonların oluşması için sentez edilen glikoproteinlerin, viral proteinlerin ve genomik HCV-RNA'nın düzenlenmesi gerekmektedir. Son çalışmalarda viral toplanmanın endoplazmik retikulumda olduğu saptanmıştır.²⁶ Partikül oluşumunda yağ damlacıkları (lipid droplets; LD) rol almaktadır.²⁷ LD ilişkili öz protein, yapısal olmayan proteinleri ve HCV-RNA replikasyon kompleksini hedef almaktadır. Bunun dışında LD-bağımlı NS5A infeksiyöz viral partiküllerin oluşumunda kilit rol oynamaktadır. E2 molekülleri de LD-bağımlı membranlara yakın noktalarda saptanmıştır. Sonuç olarak, sferik virus benzeri partiküller de LD'ye yakın alanlarda saptanmaktadır. Spesifik antikorlar kullanılarak virus benzeri partiküllerin öz protein ve E2 glikoprotein içerdiği saptanmıştır. Bu yapıların, infeksiyöz HCV'yi temsil ediyor olabileceği düşünülmektedir. Ancak, infeksiyöz HCV partiküllerinin formasyonu ve salınımı ile ilgili kesin mekanizmalar bilinmemektedir.

2.2. Epidemiyoloji

HCV, sıklıkla perkütan yaranlama sonucu bulaşmaktadır. Gelişmiş ülkelerde, daha önceleri kan transfüzyonu sonucu bulaş ön planda iken son yıllarda damar içi uyuşturucu kullananlar arasındaki bulaş birinci sırada karşımıza çıkmaktadır.¹ HCV, hepatit B virusuna göre çok daha nadir olmakla birlikte cinsel eşlere ve anneden bebeğe de bulaşabilir.¹

2.2.1. Hepatit C Virusunun Prevalansı

HCV infeksiyonu tüm dünyada yaygın, oldukça ciddi bir sağlık sorunudur. Dünyada yaklaşık 170 milyon HCV ile infekte hasta bulunduğu tahmin edilmektedir.²⁸ Dünyadaki HCV prevalansı Şekil.4’de gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerde HCV prevalansı %1 ile %2 arasında değişmektedir. Bu oran kan donörleri arasında %0,5’dir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’de genel populasyonun %1.8’nin infekte olduğu varsayılmaktadır.²⁹ ABD’de HCV prevalansı beyaz Amerikalılar’da göçmenlere göre daha düşük iken, Afrika kökenli Amerikalılar’da Meksika kökenli Amerikalılar’a göre daha yüksektir. Sosyoekonomik düzeyi düşük, 30-50 yaş arasındaki erkeklerde prevalans daha yüksektir.²⁹



Şekil 4. Dünyadaki HCV prevalansı (www.who.org sitesinden alınmıştır.)

Yüksek seroprevalans oranları %5,17 ile Afrika ve %3,55 ile Asya’da, düşük seroprevalans oranları ise %1,93 ile Amerika, %1,88 ile Avustralya ve %1,75 ile Avrupa’da saptanmıştır.¹

Dünyanın birçok yerinde HCV prevalansı birbirine benzemekle birlikte, bazı coğrafi bölgelerde HCV infeksiyonuna daha sık rastlanmaktadır. Mısır’da HCV infeksiyonu tüm

popülasyonun %10 ile %30'u arasında görülmektedir. Japonya, Tayvan ve İtalya'nın bazı bölgelerinde de bu enfeksiyona daha sık rastlanmaktadır. Bu bölgelerde 40 yaşın üzerindeki kişilerde HCV enfeksiyonu daha sık iken, 20 yaşın altındaki popülasyonda nadir görülmektedir. Enjektörlerin tekrar kullanılması, akupunktur ve steril olmayan bıçaklarla derinin kesilmesi gibi eskiden var olan ancak şu an uygulanmayan yöntemlerle bulaş olduğu düşünülmektedir. Mısır'da 1970'li yıllarda şistozomiyaz sağaltım kampanyası sırasında, ülke çapında kontamine cam enjektörler kullanılmıştır.³⁰ Birçok HCV enfeksiyonundan bu durum sorumlu tutulmaktadır. Benzer şekilde Hindistan'da kala-azar sağaltımı sırasında birden çok kişiye aynı enjektörün kullanıldığı hastalar arasında HCV seroprevalansı %31,1 olarak saptanmıştır.³¹ Japonya'nın Arahiro bölgesinde 41 yaş üzeri popülasyonun %45'i HCV ile infektidir. Ülke genelinde bu oran %2 civarındadır. Akupunktur ve steril olmayan bıçaklarla derinin kesilmesi gibi kültürel işlemler bulaştıran sorumlu tutulmaktadır.¹

Ülkemizde 2000-2006 yılları arasında farklı merkezlerdeki donör taramalarından elde edilen anti-HCV pozitiflik oranı ortalama %0,54'tür.³¹ Çeşitli gruplarda yapılan çalışmalarda anti-HCV sıklığı %0,05-%51,6 arasında bildirilmektedir. Saptanan oranlar, çalışılan risk grubu ve bölgesel özelliklere bağlı olarak farklılık göstermektedir. Kan donörlerindeki oranlar genellikle %1'i geçmemektedir. Ülkemizdeki çeşitli gruplardaki anti-HCV sıklığı Tablo 1'de verilmiştir. Yapılan çalışmadaki toplam örnek sayısı 106.593'dür. Bunların ortalaması dikkate alındığında ülkemizdeki anti-HCV seroprevalansının %1,35 olduğu görülmektedir. Bu oran ise dünya ortalamasının altındadır.³² Yine yapılan başka bir çalışmada 342.619 kan donörü çalışmaya alınmış ve ülke genelinde %0,58 oranında anti-HCV pozitifliği saptanmıştır.³³ Diyarbakır'da yapılan bir çalışmada 58.260 donör taranmıştır. Toplam 359 donörde anti-HCV(+) saptanmıştır. Sonuçlara göre anti-HCV seroprevalansı Diyarbakır yöresinde %0,62 olarak bulunmuştur.³⁴ Gülcan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 11-14 yaş arası 198 adolesan ile 18-55 yaş arası 1116 erişkin anti-HCV pozitifliği açısından taranmış ve karşılaştırılmıştır. Adolesan grupta hiç anti-HCV pozitifliği saptanmazken, erişkin grupta anti-HCV seroprevalansı %1,52 olarak bulunmuştur.³⁵ Kuruüzüm ve arkadaşlarının Ege Bölgesi'nde 83 siroz hastasını inceledikleri bir çalışmada anti-HCV seropozitiflik oranını %18,1 olarak bulmuşlardır.³⁶ Özgenç ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise 237 kan donörünün %0,84'ünde anti-HCV(+) saptamışlardır.³⁷

Tablo 1. Ülkemizde çeşitli gruplarda anti-HCV seroprevalansı.³²

Risk grubu	Çalışılan örnek Sayısı	Anti-HCV sıklığı (%)
Sağlıklı popülasyon	568	1.2
Kan donörleri	19.644	0.16
Sağlık çalışanları	199	1
Kan donörleri	1.116	1.52
Kan donörleri	58.320	0.62
Hemodiyaliz hastaları	59	6.8
Doğurganlık yaş grubu kadınlar	1.000	1.3
Kan donörleri	12.954	0.05
Hemodiyaliz hastaları	64	51.6
Sağlıklı popülasyon	9.882	2.6
Tip 2 Diyabet hastaları	237	7.1
Berberler	93	2.2
Kan donörleri	1.874	0.8
Sağlık çalışanları	496	0.2
Diş hekimliği çalışanları	87	1.4

Ankara’da yapılan bir çalışmada 3515 sağlıklı kişi anti-HCV açısından değerlendirilmiştir ve 17 kişide anti-HCV pozitifliği saptanmıştır. Bu bölgedeki anti-HCV seroprevalansı %0,5 olarak saptanmıştır.³⁸ Ankara’da yapılan başka bir çalışmada ise 4196 kişi taranmış, anti-HCV pozitifliği 19 kişide saptanmış olup bu çalışmada da bölgedeki anti-HCV seroprevalansı %0,5 olarak bulunmuştur.³⁹

Elazığ’da Özden ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada ise 18.500 serum örneği incelenmiş ve bu bölgedeki anti-HCV seroprevalansı %1 olarak saptanmıştır.⁴⁰ Kölgeliler ve arkadaşlarının Erzurum’da yaptıkları çalışmada 568 gönüllü anti-HCV açısından taranmış ve anti-HCV seroprevalansı %1,2 olarak bulunmuştur. Hastalığın en sık saptandığı yaş grubunun ise 40-49 yaş grubu olduğu belirtilmiştir.⁴¹

Kırıkkale’de yapılan bir çalışmada ise anti-HCV seropozitiflik oranları yaşa ve cinsiyete göre değerlendirilmiş, 20 yaş altında hiç seropozitiflik saptanmazken, yaşla birlikte

anti-HCV pozitiflik oranlarında artış gözlenmiştir.⁴² Turunç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 19.644 kan vericisinde değerlendirilen anti-HCV sonuçlarına göre seroprevalans %0,88 olarak bulunmuştur.⁴³

Sağlık çalışanlarının anti-HCV açısından değerlendirildiği bir araştırmada, 199 sağlık çalışanında anti-HCV seropozitiflik oranı %1 olarak bulunmuştur.⁴⁴ Yine 2003 yılında Köse ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 297 sağlık görevlisi arasında anti-HCV seropozitiflik oranı %0,3 olarak saptanmıştır.⁴⁵ Kuruüzüm ve arkadaşlarının 366 sağlık çalışanı ve 441 perkütan yaralanma vakası üzerinde yaptıkları bir çalışmada anti-HCV(+) olguya rastlamamışlardır.⁴⁶

2.2.2. *Hepatitis C Virus İnfeksiyonunun İnsidansı*

1980'li yıllarda ABD'de HCV infeksiyonunun yıllık insidansı 15/100.000 kişi iken bu sayı giderek azalmaktadır. Amerikan Hastalık Kontrol Merkezi (CDC)'ye göre toplum kökenli HCV infeksiyonunun üçte ikisini damar içi ilaç kullanan grup oluşturmaktadır. Akut HCV infeksiyonlu hastaların %38'inde son altı ay içerisinde damar içi ilaç kullanım öyküsü bulunmaktadır. Ek olarak, %44'ünde ya damar dışı uyuşturucu kullanımı olduğu öğrenilmiş ya da damar içi ilaç kullanma belirtileri görülmüştür. Akut infeksiyonlu hastaların %10-15 kadarından ise cinsel yol ve ev içi bulaş sorumludur. Transfüzyon, mesleki maruziyet ve diğer faktörler az sıklıkla tanımlanmaktadır (<%4).⁴⁷

2.2.3. *Hepatitis C Virusunun Bulaş Şekilleri*

HCV bulaşı için infeksiyöz viryonun replikasyona izin veren duyarlı hücrelerle ilişki kurması gerekmektedir.²¹ Şu anki teknolojik yöntemlerle vücut sıvılarında infeksiyöz HCV partiküllerinin varlığına bakmak mümkün değildir. Duyarlı yöntemlerle kanda, tükürükte, gözyaşında, semende, asit sıvısında ve beyin omurilik sıvısında HCV-RNA düzeyleri incelenebilmektedir. HCV-RNA barındıran kan damar içine inoküle edilir ise (örnek; transfüzyon) infeksiyon gelişir. Yapılan bir hayvan deneyinde şempanzenin damar içine tükürük inoküle edilmesiyle şempanze infekte olmuştur. Bununla beraber diğer vücut sıvılarının infektivitesi hakkında çok az veri bulunmaktadır. Ayrıca, damar içine direk perkütanöz inokülasyon olmadan virusun ana replikasyon alanı olan karaciğere nasıl ulaştığı da bilinmemektedir. Hepatitis C virusu bazı periferik mononükleer hücreleri de infekte etme ve bu hücrelerde replike olma özelliğindedir. Bununla beraber, primer replikasyon bölgesi olarak karaciğer dışında başka dokuların da olduğuna dair küçük kanıtlar bulunmaktadır. Herşeye rağmen, seksüel bulaş vardır ve konjonktiva yolu ile de bulaş bildirilmiştir.

2.2.3.1. Parenteral bulaş

Anti-HCV pozitif donörlerden kan transfüzyonu yapılan seronegatif alıcıların %90'da enfeksiyon meydana gelir.⁴⁸ Buna bağlı olarak, yaşlı, çoklu kan transfüzyon öyküsü olan talasemi ve hemofili hastalarında HCV prevalansı yüksektir. EIA (enzyme immunoassay) ve HCV-RNA testlerinin kullanıma girmesinden sonra transfüzyon bağımlı hepatit C riski 1:500.000 – 1:1.000.000 olarak hesaplanmaktadır.⁴⁹

HCV'nin kontamine kan ürünleri ile bulaştığı gösterilmiştir. Geçmişte, hemofili hastaları kontamine faktör konsantreleri ile enfekte olmuştur ve kontamine intravenöz immunglobulin ürünleri ile birkaç geniş çaplı salgın bildirilmiştir. Kan ürünlerinin üretimi için kullanılan plazma havuzlarının taranması enfeksiyon riskini azaltmaktadır. Günümüzde, virus inaktivasyon prosedürleri ile bu ürünlerle bulaş riski çok azalmıştır. İntravenöz immunglobulin (IVIG) artık oldukça güvenli olduğu belirtilmektedir. Buna karşı kas ya da damar içine verilmesinden sonra zaman zaman hepatit C olgu bildirimleri yapılmıştır. İnaktivasyon basamağına plazma taraması ve rekombinant pıhtılaşma faktörlerinin kullanımının eklenmesi ile bu problem aşılmıştır ve yeni preparatlarla artık bulaş bildirilmemektedir.⁵⁰

Hemodiyaliz ünitelerinde anti-HCV sıklığı ülkelere göre %4-70 arasında değişmekle birlikte ortalama %20'dir.⁵¹ Kuzey Avrupa ülkelerinde oran <%5 iken, Japonya'da %30-50 arasındadır. Özgenç ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada anti-HCV pozitifliğini diyaliz hastalarında %29,9 olarak saptamışlar ve anti-HCV pozitifliği ile hemodiyaliz süresi arasında korelasyon olduğunu belirtmişlerdir.⁵² Kuruüzüm ve arkadaşlarının 292 hemodiyaliz olgusunu araştırdıkları çalışmada 83(%28,4) hastada anti-HCV pozitifliği saptamışlardır.⁵³ Diyaliz hastalarında HCV riski; kan transfüzyon sıklığı, hemodiyaliz süresi, diyaliz tipi ve diyaliz ünitesindeki HCV enfeksiyonunun prevalansı ile ilişkilidir. CDC, HCV enfeksiyonu olan hastalarda makinelerin ayrılmasını, hastaların izolasyonunu veya yeniden kullanımının yasaklanmasını önermemektedir. Ancak genel önlemlere çok sıkı uyum, hijyene dikkat ve diyaliz makinelerinin titiz sterilizasyonunu tavsiye etmektedir.⁴⁷

Organ transplant alıcıları HCV enfeksiyonu için ciddi risk taşırlar. Bu hastalarda enfeksiyon, transplantasyondan önceki hastalığın nüksü, transplantasyon sırasında yapılan transfüzyon veya donörde varolan enfeksiyon sonucu gelişmektedir. Antikor testleri immunsuprese organ alıcılarında HCV enfeksiyonunun prevalans ve bulaşını göstermede daha az değerlidir. Bu nedenle anti-HCV gelişmeyen ya da kaybolan hastalarda HCV-RNA testi

gerekebilmektedir. Anti-HCV(+) donörden seronegatif alıcıya yapılan transplantasyonda infeksiyon riski %30-80 arasında değişmektedir.⁵⁴ HCV infekte donörden böbrek, karaciğer ve kalp nakli yapılan hastaların transplantasyondan sonra %90-100'ünde infeksiyon geliştiği bildirilmektedir.⁵⁰

Gelişmiş ülkelerde damar içi uyuşturucu kullanımı HCV infeksiyonunun en sık geçiş yolu olduğu bildirilmektedir. Kontamine enjektör uçları ve diğer ilgili malzemeler bulaşta rol oynamaktadır. ABD'de 1992 yılından bu yana yeni olguların en az üçte ikisinin damar içi uyuşturucu kullanımına bağlı geliştiği bildirilmiştir.⁵⁵ Dünya çapında uyuşturucu kullanan kişilerin %50-95'inin HCV ile infekte olduğu tahmin edilmektedir. Yapılan bir çalışmada bir yıl veya daha kısa sürede damar içi uyuşturucu kullanan 716 kişinin kan incelemesinde anti-HCV seroprevalansı %67,4 olarak bildirilmekte iken aynı grupta HBV seroprevalansı %49,8 ve HIV seroprevalansı %13,9 olarak bulunmuştur.⁵⁶ Başka bir çalışmada ise iki yıl ve daha uzun süredir damar içi uyuşturucu kullandığını belirten olguların %80'i HCV ile infekte bulunmuştur. Yine aynı grupta HBV ve HIV infeksiyonu prevalansı daha düşük olarak saptanmıştır.⁵⁷ Bu durumlar dışında tatuaj ya da akupunktur gibi işlemler sırasında HCV bulaşı olabilmektedir.

HCV infeksiyonu olan hastalarda daha önce hastanede kalma bir risk faktörü olarak bilinmektedir. Çünkü hospitalize hastalardaki HCV infeksiyon sıklığı daha yüksektir. Yatılan servise göre değişmekle birlikte bu oran %2-20 arasındadır. Nozokomiyal bulaş yetersiz dezenfeksiyon ve kontamine aletlerin kullanımı sonucu olmaktadır. HCV infeksiyonu olan bir hastadan sonra kolonoskopi uygulanan iki hastada 8-10 hafta sonra HCV infeksiyonu saptanmıştır. Üç hastanın da nükleotid sekans analizi birbirleri ile uyumlu bulunmuş olup nozokomiyal bulaş olarak kabul edilmiştir.⁵⁸

İğne batması sonucu sağlık personeline bulaş riski %0-10 olarak kabul edilmektedir. İğnenin tipi ile bulaş arasında yakın ilişki saptanmıştır. İçi delik ve kanüllü iğnelerde kan kalma ihtimali daha fazla olduğundan riskin daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Konjonktivaya kan sıçraması ile bulaşa dair olgu bazında yayınlar olmakla birlikte sağlam doku ve müköz membranlar ile infeksiyon gelişmemektedir. Bu risklere karşın sağlık çalışanlarında HCV infeksiyon prevalansı genel popülasyona yakın düzeydedir.¹

HCV, sağlık çalışanlarından nadir de olsa hastalara da bulaşabilir. HCV-RNA'sı pozitif olan ve on yıllık dönemde 10.000 cerrahi işlem yapan cerrah sadece bir hastaya HCV bulaştırabilmektedir.⁵⁰

2.2.3.2. Anneden bebeğe geçiş

Virusun anneden bebeğe geçişine sık rastlanmamaktadır. Yapılan geniş serili çalışmalarda bulaş %0-8 arasında değişmektedir. Annede HIV ile koinfeksiyon ve üçüncü trimesterde yüksek HCV viremi varsa bebeğe geçiş riski 2-4 kat artmaktadır. Bulaş riskini artıran diğer faktörler, uyuşturucu bağımlılığı ve HCV genotipidir. Birçok çalışmada doğum şeklinin bulaşı etkilemediği belirtilmiştir. Yenidoğana bulaşı önlemek amacıyla sezeryan önerilmemektedir. Sezeryan ile doğmuş, emzirilmeyen bebeklerde birinci ayda kanda HCV-RNA saptanmıştır. Bu durum infeksiyonun in utero son aylarda alındığını göstermektedir.⁵⁹

HCV-RNA varlığı anne sütünde de gösterilmiştir.⁶⁰ Yapılan birçok çalışmada anne sütüyle ya da biberonla beslenmede HCV geçişi açısından fark saptanmamıştır. HCV geçişini önlemek için HCV infekte annelerin bebeklerini anne sütü yerine mama ile beslemeleri önerilmemektedir.⁶¹

2.2.3.3. Cinsel yolla bulaş

HCV'nin cinsel yolla bulaşı tam olarak kanıtlanmamışsa da bu durumu destekler deliller bulunmaktadır. HCV-RNA semen ve tükürükte saptanmıştır. Birden fazla cinsel eşi olanlar ve seks çalışanlarında HCV infeksiyon prevalansı belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Akut HCV infeksiyonuna cinsel temas grubunda diğer risk gruplarına göre daha sık rastlanmıştır. Japonya ve Avrupa'da yapılan birçok çalışmada ev içi temasta cinsel ilişkisi bulunan kişilerin aynı evi paylaşan diğer bireylere göre infekte olma riski daha fazla saptanmıştır. Bu durumlarda birlikteliğin süresi de riski artırmaktadır. Cinsel teması olan bireylerdeki HCV suşların sekansları birbirine çok yakın bulunmuştur. Bununla beraber cinsel temas dışında iğne ve jiletlerin ortak kullanımı gibi diğer bulaş şekilleri ev içi temaslarda dışlanmamaktadır.

HCV'nin orta derecede endemik olduğu yörelerde aile içi bulaşın olduğu bildirilmektedir. İndeks hastayla temas süresi ile bulaşma riski arasında paralellik olduğu bildirilmektedir. İspanya'da yapılan bir çalışmada aile içi temas olan gruplarda HCV infeksiyon sıklığı %4,9 olarak saptanmış olup kan donörlerinde saptanan seroprevalansın üzerindedir. İtalya'da seropozitif diyaliz hastalarının aile bireyleri arasında anti-HCV sıklığı %7, eşlerde %12,5 ve çocuklarda %11,3 oranında saptanmış iken Japonya'da ailelerinde indeks hasta bulunan 1442 öğrencinin tümünde anti-HCV negatif saptanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda intrafilyal geçiş oranı %0-4,2 arasında değişmektedir.³²

Yapılan çalışmalarda cinsel yolla bulaş söz konusu olduğu halde HBV ve HIV enfeksiyonuna göre risk çok daha düşük düzeyde saptanmaktadır. Ayrıca, bazı çalışmalarda cinsel bulaşın nadir olduğu belirtilmektedir. Hemofilili ve transfüzyon alıcısı olan HCV enfeksiyonlu hastalar uzun dönem izlendiğinde kondomsuz cinsel ilişki durumunda dahi cinsel yolla HCV bulaşına ait kanıt hiç yok ya da çok düşük ihtimaller mevcut olarak bildirilmektedir. Ek olarak, homoseksüel erkekler arasında da HCV enfeksiyonu HBV ve HIV enfeksiyonuna göre daha nadir saptanmaktadır. Cinsel yolla bulaşın nadir olmasının seminal ya da vajinal sıvıdaki infekte viryonların durağanlığına mı yoksa genital mukozadaki duyarlı hücrelerin yetersiz miktarda olmasına mı bağlı olduğu henüz bilinmemektedir.

Sonuç olarak, monogami ilişkilerde cinsel yolla düşük bir ihtimal de olsa bulaş olabileceği konusunda bireyler bilgilendirilmelidir.

2.3. Patogenez

Akut ve kronik HCV enfeksiyonunda doku hasarından sorumlu mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. HCV, konak hücre proteinleri ile bir etkileşim gösterse de, elde edilen biyopsi materyallerinde virusun sitopatik etkili olmadığı gözlenmektedir. Klasik olarak karaciğer hasarı ve fibroze, virusa karşı ortaya çıkan hücresel bağışık yanıtın neden olduğu düşünülmektedir.

2.3.1. Viral Persistans

Deneysel olarak infekte edilen şempanze ve insanlarda, HCV-RNA plazmada temastan sonraki günler içinde, sıklıkla karaciğer enzimlerinin yükselmesinden bir ile dört hafta önce saptanmaktadır.⁶² Enfeksiyonun ilk 8-12 haftasında viremi pik yapmakta, sonrasında daha düşük düzeylere inmekte ve bu şekilde devam etmektedir. Bazı durumlarda, ilk birkaç ayda plazma HCV-RNA saptanamayacak düzeye inip ve bu şekilde devam edebilmektedir (viral klirens).⁶³ Bazen de intermittan viremi reinfeksiyonu belirtir ki bu durum, damar içi uyuşturucu bağımlılarında görülmüştür.⁵⁸ Diğer durumlarda, rebound viremi başlangıçtaki başarılı immun yanıtın kaçışı ifade edebilmektedir. Sonuç olarak, akut hepatit C olgularının %50 -85'inde viremi devam etmektedir.⁶²

Deneysel hayvan modellerindeki kısıtlamalar ve doğal akut enfeksiyonun nadir saptanması nedeniyle viral klirens mekanizması net olarak anlaşılamamıştır. Konak faktörünün önemli olduğuna dair klinik ve epidemiyolojik ipuçları bulunmaktadır. Konak faktörünün rolü, kaza sonucu birçok kişinin aynı HCV inokulumu ile infekte olduğu salgınlarda, bazı kişilerin iyileşmesi ile de saptanmaktadır.⁶⁴ Akut enfeksiyonu daha gürültülü

bir klinik tablo ile geçiren kişilerde güçlü immün yanıtı bağli olarak HCV infeksiyonunun klirensi daha fazla olmaktadır.⁶³

2.3.2. Sıvısal Bağışıklık

İnfeksiyondan aylar sonra, kanda yapısal ve yapısal olmayan HCV genlerine uyan rekombinan antijenlere karşı antikorlar saptanabilmektedir. HCV'ye özgü antikorlar ile viral klirens arasında ilinti bulunmamaktadır. Genelde immünkompetan kişilerde bazı HCV antijenlerine karşı antikor yanıtı oluştuğu halde çoğunda infeksiyon devam etmektedir. Diğer yandan, viral klirensde önemli rolü olduğu düşünülmesi de sıvısal bağışık yanıtın ayrı ayrı varyantları nötralize edebildiğine dair veriler bulunmaktadır. Örnek olarak, 1990 yılından önce içinde HCV antikorları içeren immünglobulin kullanılan karaciğer nakil alıcılarında HCV infeksiyonuna daha nadir rastlanmıştır.⁶⁵

2.3.3. Hücresel Bağışıklık

Viral klirens güçlü hücresel bağışık yanıt ile ilişkilidir.⁶⁶ Akut infeksiyonda hem CD4+ T lenfositler hem de CD8+ T lenfositler önemli rol oynamaktadırlar. İyileşen kişilerde CD4+ T lenfosit yanıtı saptanabilirken, CD8+ T lenfosit yanıtı saptanamamaktadır.⁶⁶ Buna karşı, persistan infeksiyonu olan hastalarda periferik kanda CD4+ T lenfosit yanıtını saptamak oldukça zor olmaktadır. Bazı HCV'ye özgü CD8+ T lenfositler γ interferon üretemezler ve bu durum infeksiyonun eradike edilememesine katkıda bulunmaktadır.⁶⁷ Periferik kanda ve karaciğerdeki güçlü poliklonal sitotoksik T lenfosit yanıtı, düşük HCV-RNA düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. Şempanzelerde yapılan deneysel çalışmalarda CD4+ ve CD8+ bellek T hücrelerinin reinfeksiyona karşı korunmada çok önemli rol oynadığı gösterilmiştir. İkinci infeksiyonun kontrolünün, karaciğerde bulunan CD8+ T hücrelerinin sitolitik aktiviteyi hızlıca kullanmaları sonucu kanda dolaşan CD4+ ve CD8+ bellek hücrelerinin artışı ile sağlandığı düşünölmektedir.⁶⁸

2.3.4. Persistans Mekanizmaları

Hücresel bağışık yanıtın bir kısmının güçlü, bir kısmının ise etkisiz olmasının nedeni tam olarak bilinmemektedir. HIV ya da şistozomiyaz ile koinfeksiyonun viral persistans ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalarda bulunmaktadır. İnfeksiyonu devam eden ve iyileşen kişiler arasında konak farklılığına neden olan MHC sınıf 1 ve 2'de belli allellerin bulunduğu izlenmiştir.^{69,70}

Büyük olasılıkla, doğal bağışıklık infeksiyonun başlangıcında ve sonraki adaptif bağışık yanıtın aktivasyonunda oldukça önemlidir. NS3/4A proteaz, IRF3'ün viral replikasyonunu bloke eder. IRF3, latent sitoplazmik transkripsiyon faktörüdür. Nukleusda yerleşmiş olan bu faktör, virus ile aktive olduğunda, β interferon'un transkripsiyonunu artırmaktadır. İnterferon β ise otokrin ve parakrin mekanizmaları ile α interferon ve birçok antiviral sitokin ve kemokin sentezini stimule ederek viral replikasyonun inhibisyonunu ve adaptif bağışık yanıtın düzenlenmesini sağlamaktadır.¹

NK (naturel killer) hücreleri, HCV infeksiyonunun kontrolünde direkt etkili hücrelerdir. HCV E2 proteininin NK hücrelerini inhibe edebileceği öne sürülmüştür. NK hücreleri aynı zamanda dendritik hücrelerin potansiyel aktivatörü olarak da görev yapmaktadır. Bir in vitro hücre kültür modelinden elde edilen son verilerde; HCV ile sürekli infekte karaciğerde bulunan NK hücrelerine gönderilen negatif düzenleyici sinyallerin, denritik hücrelerin olgunlaşmasını önlediği belirtilmiştir.¹

HCV sekans varyasyonu ile T ve B hücrelerinden immun kaçış, viral persistansa neden olmaktadır. Kritik bir epitopta meydana gelen bir mutasyon yeni bir türümsü varyant gelişimine neden olabilmekte ve daha önce baskılayıcı olan hücresel ya da sıvısal bağışık yanıtı kaçılabilmektedir. Çeşitli çalışmalarda, persistan infeksiyon gelişen akut hastalarda komplike türümsülerin bulunduğu saptanmıştır. HCV'ye karşı immun yanıt birçok epitopa karşı geliştiğinden türümsü çeşitliliği viral persistansın nedeninden çok sonucudur.¹

Özetle, birçok faktör HCV persistansına neden olmaktadır. HCV ile infekte immunkompetan bireylerde virus uzun dönem persistansı sağlamak için birbiri ile örtüşen birçok immun kaçış mekanizması geliştirmiştir. Büyük olasılıkla, ileride bunlara yenileri eklenecektir.

2.3.5. Hastalık Progresyonu

Hepatit C virus infeksiyonu karaciğerde inflamasyon ve steatoza neden olmakla birlikte, persistan infeksiyonun başlıca sonucu hepatik fibrozis gelişmesidir. Bunun sonucu olarak da yaşamı tehdit eden siroz ve hepatosellüler karsinom riskinde artış karşımıza çıkmaktadır. Bu komplikasyonlar, infeksiyonun başlangıcından yaklaşık yirmi yıl sonra meydana gelmektedir. Daha kısa sürede meydana gelen olgular da rapor edilmiştir. İnfeksiyon

başlangıcından 10-20 yıl sonra siroz gelişme olasılığının tahmini %5-25 olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır ve infeksiyondan 30 yıl sonra hastalığın progresyonu ile ilgili çok az veri bulunmaktadır.⁷¹ Thomas DL ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada ortalama 14 yıllık bir süreçte damar içi uyuşturucu kullanımı sonucu HCV ile infekte olmuş 1667 kişi ortalama 8.8 yıl izlenmiş ve karaciğere bağlı ölüm insidansı çok düşük bulunmuştur. (3/ 1000 hasta-yılı).⁷² İkiyüz on HCV ile infekte hastaya randomize olarak karaciğer biyopsisi yapılmış ve %10 hastada ciddi karaciğer hasarı saptanmıştır (İshak modifiye fibrozis skoru 3-6).⁷³

Yapılan çalışmalarda baz tetkiklerin yetersizliği ve konak, çevresel ve viral faktörlerin hastalığın progresyonundaki etkileri nedeniyle ciddi karaciğer hasarı gelişim süreleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Hastalığın değerlendirilmesi oldukça zordur. HCV infeksiyonunun asemptomatik olması nedeniyle hastanın son dönem karaciğer hastalığı ya da siroz gelişmeden saptanması oldukça zor olmaktadır. Karaciğer fibrozisini değerlendirmenin en iyi yolu karaciğer biyopsisi yapmaktır. Ancak biyopsi yapılması invaziv bir yöntemdir ve bu konuda deneyimsiz merkezler tanı koymada sıkıntı yaşamaktadırlar.

2.3.6. Hepatik Fibrozis

Fibrozis, karaciğer mikrosirkülasyonu ve hücre fonksiyonlarını bozarak karaciğer yapısının düzensizleşmesine yol açan, hücreler arası matriks bileşenlerinin birikmesi ile karakterize bir tablodur. Viral hepatit tablosu ile birlikte periportal alanda başlayıp, portal alanlar arasındaki septalara daha sonra santral venler arasındaki lobüllere ulaşmaktadır. Matriks genişleyip kompozisyonunu değiştirdikçe, normal karaciğer fizyolojisi de değişmektedir.

Çoğu hastada siroz geliştiği halde bazı hastalarda gelişmemesinin nedeni bilinmemektedir. Bir grup HCV varyantının daha virulan olduğu düşünülmektedir. Akut infeksiyonda karaciğer hasarına ait herhangi bir veri bulunmaksızın virus, replikasyonunu hızlı bir şekilde haftalarca sürdürmektedir. Bazı çalışmalarda, genotip 1b ile gelişen infeksiyonda daha kompleks türümsülerin olduğu, daha yüksek düzeyde vireminin olduğu ve sirozun daha sık izlendiği belirtilmiştir.^{74,75} Ancak, HIV infeksiyonunda olduğu gibi viremi düzeyi ile hastalık progresyonu arasında belirgin bir korelasyon bulunmamaktadır.

Konağın genetik faktörleri büyük olasılıkla siroz gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada Afrika kökenli Amerikalılar'da, Kafkas kökenli Amerikalılar'a göre

fibrozis progresyonunun oldukça yavaş olduğu bildirilmiştir.¹ Belli HLA allelleri de hastalığın farklı progresyonunda rol alır. TGF- β 'yı kodlayan gen dahil olmak üzere çeşitli genlerdeki değişik polimorfizmin de hastalık patogenezinde rol oynadığı düşünülmekle birlikte aradaki bağlantı net olarak gösterilememiştir.^{76,77}

2.3.7. Hepatosellüler karsinom (HSK)

Özellikle siroz gelişmiş HCV ile infekte hastalarda hepatosellüler karsinom riski artmıştır. Son yıllarda batı ülkelerinde hepatosellüler karsinom insidansındaki artıştan HCV prevevalansındaki artış sorumlu tutulmaktadır. Japonya, Kore ve güney Avrupa'da hepatosellüler karsinomların %50-75'i HCV infeksiyonu ile ilişkilidir. İtalya'da yapılan bir çalışmada, karaciğer kanserli hastaların %71'inde HCV infeksiyonu saptanmışken, HBV infeksiyonu sadece %15'inde bulunmuştur.

Siroz ile birlikte başka kofaktörlerin bulunması hepatosellüler karsinom riskini artırmaktadır. HCV ile infekte bireylerde HBV koinfeksiyonu kanser riskini artırmaktadır. Genotip 1 ile infekte olmak da kanser riskini artırmaktadır. Alkol ve sigara kullanımı, ileri yaş, erkek cinsiyet kanser riskini artıran diğer faktörlerdir.

2.4. Klinik

2.4.1. Akut Hepatit C

Akut hepatit C olgularının çoğu subklinik ve anikterik seyrettiği için akut dönemde hepatit C'nin tanınması oldukça güçtür. ABD'de akut hepatit olgularının yaklaşık %15'i hepatit C virusuna bağlıdır. Akut hepatit C insidansı evrensel korunma önlemlerinin uygulanması, post-transfüzyon hepatit olgularının azalması ve damar içi uyuşturucu kullanımı ile bulaşın azalması nedeniyle düşüşe geçmiş gibi görünmektedir.⁵⁵ Günümüzde en önemli bulaş yolu damar içi uyuşturucu kullanımıdır.⁷⁸ CDC'ye bildirilen vakaların %40'ında bilinen bir risk faktörü saptanamamıştır.⁴⁷

Klinik bulgular diğer tüm hepatit kliniklerine benzer olup kesin tanı serolojik yöntemlerle saptanabilmektedir Sarılık, hastaların ancak %15-25'inde izlenmektedir. Ortalama inkübasyon süresi 50 gündür (14-120 gün). Prodrom döneminde iştahsızlık, halsizlik, sağ üst kadranda ağrısı ve hafif ateş saptanabilmekte ve bu belirtiler iki ile on gün arası sürmektedir.

Sarılık bir iki hafta içerisinde sonlanmaktadır. Sarılık öyküsü olan hastalarda kronik safhaya gidiş daha az görülmektedir. Akut, kendini sınırlayan bir tabloya sahip hastalarda normal serum aminotransferaz düzeyleri ve HCV-RNA negatifliği ile iyileşme görülebilmektedir. İnfeksiyon sonrası kanda HCV-RNA günler ile sekiz hafta içinde saptanabilir düzeye gelmektedir. Sarılık gelişiminden önce kanda HCV-RNA saptanabilmekte ancak büyük dalgalanmalar sonucu bazı hastalarda periyodik olarak negatif bulunmaktadır. Virusa maruziyet sonrası hastalığı dışlamak için HCV-RNA PZR testinin yapılması gerektiği henüz netleşmemiştir. Anti-HCV, EIA testi ile bulaştıktan sekiz hafta sonra kanda saptanabilmektedir. Semptomatik hastaların yarısında sağlık merkezine ilk başvurularında anti-HCV testi pozitifliği saptanmaktadır. Subklinik olgularda bu süre uzayabilmektedir. Anti-HCV testi kronikleşme ve iyileşme arasındaki farkı gösterememektedir. Akut enfeksiyonda klinik şüphe ile erken dönemde HCV-RNA testi önerilmektedir. Serum aminotransferaz düzeyleri ortalama 6-12. haftalar (1-26 hafta) arasında yükselişe geçer ve bu düzeyler değişkendir.

Akut enfeksiyon ile yeni saptanmış kronik bir enfeksiyonun ayırımı çoğu zaman mümkün olamamaktadır. Her iki durumda da hem anti-HCV hem de HCV-RNA pozitifliği saptanmaktadır. Yakın zamanda virusa maruz kalma öyküsü, anti-HCV negatifliği ile beraberinde HCV-RNA pozitifliği, akut hepatit semptomları, aminotransferaz düzeyleri durumu aydınlatmaya yardımcı olabilmektedir.

Akut hepatit semptomlarının yokluğu, kronik hastalık oluşturma sıklığı (%85) nedeniyle HCV yıllarca sessiz kalıp son dönem karaciğer hastalığı şeklinde karşımıza çıkabilmektedir. Bu nedenle, yüksek risk grubunun periyodik olarak taranması uygundur.

Akut HCV enfeksiyonu sırasında fulminan hepatit gelişimi nadir olmakla birlikte, altta kronik HBV enfeksiyonunun olduğu durumlarda sıklığı artmaktadır.

Akut HCV enfeksiyonunda sağaltım konusunda kesinleşmiş bir bilgi olmasa da yapılan çalışmalarda sağaltım ile kalıcı yanıt alınmıştır. Zekry ve arkadaşlarının yaptığı bir meta-analizde kalıcı yanıt oranı %57-100 arasında değişmektedir.⁷⁹ Alberti ve arkadaşlarının yaptığı bir başka analizde ise virolojik yanıtın sağaltım alan grupta %37-100 iken, sağaltım almayan grupta %0-20 arasında olduğu saptanmıştır. Sağaltımın hemen başlamasını öneren çalışmalar olduğu gibi spontan klirensin beklenmesini öneren çalışmalar da mevcuttur.⁸⁰

Özet olarak; akut hepatit C hastalarına sağaltım yapılmalıdır. Sağaltım için 8-12 hafta beklenebilir. pegile-interferon (PEG-IFN) monoterapisi sağaltım için uygun bir ajandır. Genotip 4 için 12 haftalık sağaltım yeterli iken genotip 1 için ise 24 haftalık sağaltım gerektirmektedir. Esas çözümler ise kronikleşme mekanizmasının çözümlenmesi, prediktörlerin saptanmasıdır.

2.4.2. Kronik Hepatit C

Akut HCV infeksiyonu en az %85 vakada kronikleşmektedir. Virusun replikasyon hızının yüksek olması (10^{11} - 10^{12} viryon/gün, 2-3 saatlik viryon yarı ömrü), polimerazın düzeltme (proofreading) aktivitesinin yokluğu, yüksek mutasyon hızıyla kontrol edilen moleküler heterojenite virusun kronikleşmesine katkıda bulunmaktadır. Altı çeşit genotipe ek olarak, %30-50 arasında nükleotid sekans değişikliği mevcuttur.

Dünyada yaklaşık 175 milyon kişinin Hepatit C virusu ile infekte olduğu düşünülmektedir. Sadece ABD’de toplumun %1.8’i (4 milyon kişi) infektedir ve HCV infeksiyonuna bağlı yıllık 8000-10000 ölüm olacağı tahmin edilmektedir.⁸¹

Hepatit C’nin etkisi küçümsenmeyecek düzeydedir. Tüm kronik karaciğer hastalarının %25-40’nı kronik hepatit C’li hastalar oluştururken, karaciğer transplantasyon hastalarının da yaklaşık %40’ı hepatit C hastasıdır.⁸²

Histolojik bulgular hastalığın progresyonunu gösteren en iyi belirteçlerdir. Japon hastalarda yapılan bir çalışmada, 20 yıllık süreçte biyopsi yapılan hepatit C infeksiyonlu hastalar izlenmiş ve histolojik olarak hafif fibrozis ve nekroinflamatuvar aktivitesi olanlarda siroza gidiş sınırlı bulunurken, ılımlı ya da ciddi hepatit/fibrozis bulguları olan hastalarda sırasıyla 20 ve 10 yıllık süreçte siroz gelişmiştir. Bu nedenle biyopsi erken dönemde karaciğer hasarını saptamanın yanında ilerleyen yıllarda histolojik progresyonu da tahmin etmeyi sağlamaktadır.^{83,84} Histolojik progresyonu tahmin etmede; ileri yaş, nekroinflamatuvar aktivite (özellikle periportal nekroz), aminotransferaz değerleri ana belirteçlerdir. Aminotransferaz düzeyleri normal hastalarda da ciddi histolojik değişiklik görülmesine rağmen, yapılan çalışmalarda normal aminotransferaz düzeyleri olan hastaların çok büyük bölümünde hafif histolojik özellikler saptanmıştır.¹

Uzun dönemli birçok çalışmada, aminotransferaz düzeyleri normal olan hastalarda beş yıl boyunca histolojik progresyon saptanmadığı gözlenmiştir.⁸⁵ Bu hasta grubunun dörtte birinde izlemde aminotransferaz düzeylerinde yükselmeler gözlendiği için normal değerleri olan hastaların da düzenli olarak takip edilmesi gerekmektedir.

Hastaların büyük çoğunluğunda kronik hepatit C infeksiyonu yavaş seyirli bir karaciğer hastalığıdır. Genç kadın ve çocuklarda %2-4 arasında siroza ilerlerken, toplumda genç erişkinlerde (<40 yaş) siroz gelişimi %10'dan azdır. Referans merkezlerin yaptığı çalışmalarda daha ileri yaştaki bireylerin %20-25'inde siroz gelişmektedir.^{86,87}

HCV-RNA, HCV genotip ve HCV türümsülerinden hiçbirisi hastalık progresyonu ile bağlantılı bulunmamıştır. Bazı faktörlerin fibrozisi hızlandırıcı etkileri olduğu saptanmıştır. İnfeksiyon alındığında ilerlemiş yaş olması, erkek cinsiyet, aşırı alkol tüketimi, HBV ya da HIV ile koinfeksiyon, bazı HLA haplotipleri, eşlik eden diğer karaciğer hastalıkları (hemakromatozis, steatohepatit gibi) bu faktörler arasındadır.^{72,76} Steatoz ile ilişkili fibrozise genotip 3 hastalarında daha sık rastlanmıştır.⁸⁸ Afrika kökenli Amerikalılarda akut hepatit C infeksiyonu daha sık kronikleşmekte ise de siroz gelişimi beyazlara göre daha nadirdir. Kronik hepatit C infeksiyonunun akut hepatit A geçiren bireylerde daha ciddi seyrettiğini gösteren bir çalışma da mevcuttur.⁸⁹

Kompanze siroz gelişmiş hepatit C infeksiyonlu hastalarda hastalığın doğal seyri oldukça iyi olup, 10 yıllık yaşam oranı %80'dir. Dekompanzasyon geliştiğinde ise bu oran dramatik olarak %50'ye düşmektedir. Sirozda dekompanzasyon insidansı %4-5/yıl, mortalite insidansı %2-6/yıl, HSK insidansı ise %1-4/yıldır. Hastalık en az 20, genellikle 30 yıllık süreci tamamlamıştır. Hemen tüm hastalar sirotiktir ya da en azından ilerlemiş fibrozis mevcuttur.^{90,91} İn vitro çalışmalarda öz protein ve NS3 proteininin memeli hücrelerini dönüştürdüğü gözlenmiştir ve öz proteininin transgenik farelerde hepatokarsinogenezi indüklediği izlenmiştir.⁹² Diğer karaciğer hastalıklarında olduğu gibi kronik hepatit C infeksiyonu, hepatosit rejenerasyonunun tekrarlayan sonsuz döngülerini destekleyerek, malign klonların gelişimine ve sonuç olarak karaciğer kanserine neden olabilir. Hepatit C infeksiyonlu sirotik hastalarda, aşırı alkol tüketimi, karaciğerde demir birikimi ve eşlik eden hepatit B infeksiyonu HSK riskini artırır. ABD'de HSK tanılı hastaların üçte birinde kronik hepatit C infeksiyonu mevcuttur. Japonya'da ise HSK tanılı hastaların %90'ı kronik hepatit C hastasıdır.

Kronik hepatit C hastalarının en tipik tablosu, yeni tanı konmuş asemptomatik kişiler şeklindedir. Semptomatik hastaların ise en sık şikayetinin yorgunluk olduğu belirtilmektedir. Laboratuvar değerlerinde ise en sık alanin aminotransferaz (ALT) yüksekliği görülmektedir.

Dekompanze siroz geliştiğinde ise aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinin ALT düzeylerini geçtiği izlenmektedir. Diğer kronik karaciğer hastalıklarından farklı olarak kronik hepatit C'li olgularda aminotransferaz düzeylerinde dalgalanmalar görülmektedir. Bu dalgalanmaların, konağın immun baskısını engelleyen yeni bir türümsü oluşumunun ve nekroinflamatuvar aktivitede artışın bir göstergesi olduğu varsayılmaktadır. İlerleyen kronik hepatit C ve fibrozis sonucunda hipersplenizm oluşmakta, trombosit ve lökositlerde düşüş meydana gelmektedir. Kompanze sirozda protrombin zamanı ve serum albumin düzeyleri normal iken, dekompanze sirozda bu belirteçlerde bozulmalar görülmektedir.⁹³

Kronik hepatit C'ye serumda dolaşan otoantikolar eşlik edebilmektedir. Nükleer otoantikolar ve karaciğer böbrek mikrozomal antikoru (anti-LKM1) bunlar içerisinde en sık izlenen otoantikordur. Hastaların yarısında dolaşan immun kompleksler saptandığı halde nadir hastada immun-kompleks hastalığı izlenmektedir.

Histolojik bulguları değerlendirmede nekroinflamatuvar aktivite için 'dereceleme', fibrozis için 'evreleme' tanımlaması kullanılmaktadır. (Tablo 2 ve 3) Grade hem periportal(piecemeal=güve yeniği) hem de lobüler nekrozun yoğunluğuna bağlı olarak A0, A1, A2, A3 şeklinde değerlendirilmektedir.

Bir karaciğer biyopsisinde histolojik aktivite, portal ve lobüler iltihabın varlığını ve şiddetini, lobüler hasarın yoğunluğunu, sınırlayıcı membran hasarının varlığını ve şiddetini göstermektedir. Total histolojik aktivite indeksi karaciğerdeki nekroinflamatuvar hasarın, yani kronik hepatitin şiddetinin göstergesidir.

HCV infeksiyonu ile birlikteliği olan otoimmun hastalıklar arasında Sjögren sendromu ve mikst kiryoglobulinemi gibi immun kompleks hastalıkları yer almaktadır.⁹⁴ Mikst kiryoglobulinemi, lenfoproliferatif hastalıklarla da ilişkilidir. Lenfoproliferatif hastalıklar da kronik hepatit C ile daha sık görülmektedir.⁹⁵

Tablo 2. İshak aktivite indeksi

A. Periportal veya periseptal interface hepatit (güve yeniği nekrozu)	Skor
Yok	0
Hafif (fokal,birkaç portal alanda)	1
Hafif/orta derecede (fokal, portal alanların çoğunda)	2
Orta derecede (portal bölgenin veya septanın %50'den az ve devamlı)	3
Ciddi (portal bölgenin veya septanın %50'nin üzerinde ve devamlı)	4

B. Konfluent (Birleşmiş) nekroz	Skor
Yok	0
Fokal konfluent nekroz	1
Bazı alanlarda zon 3 nekroz	2
Çoğu alanda zon 3 nekroz	3
Zon 3 nekroz ve nadir porto-sentral (P-C) köprüleşme	4
Çok sayıda zon 3 nekroz ve porto-sentral (P-C) köprüleşme	5
Panasiner veya multiasiner nekroz	6

C. Fokal (spotty) litik nekroz, apoptozis ve fokal inflamasyon	Skor
Yok	0
Bir odak veya her 10x objektif büyütmesinde birden az	1
Her 10x objektif büyütmesinde 2-4 odak	2
Her 10x objektif büyütmesinde 5-10 odak	3
Her 10x objektif büyütmesinde 10'dan çok odak	4

D. Portal inflamasyon	Skor
Yok	0
Hafif, portal alanların tümü veya bazıları	1
Orta derecede, portal alanların tümü veya bazıları	2
Orta derecede veya şiddetli, portal alanların tümü	3
Şiddetli tüm portal alanlar	4

Evre, fibrozisin varlığı ve yaygınlığının göstergesidir.

Tablo 3. Histolojik evreleme sistemlerinin karşılaştırılması

EVRE	METAVİR	İSHAK
0	Fibrozis yok	Fibrozis yok
1	Periportal fibrotik genişleme	Bazı portal alanlarda fibröz genişleme, kısa fibröz septa ile birlikte ya da değil
2	Periportal septalar	Portal alanların çoğunda fibröz genişleme, kısa fibröz septa ile birlikte ya da değil
3	Porto-sentral septalar	Portal alanların çoğunda fibröz genişleme, eşlik eden nadir porto-portal (P-P) köprüleşme
4	Siroz	Portal alanlarda fibröz genişleme, eşlik eden belirgin porto-portal (P-P) ve aynı zamanda porto-sentral(P-C) köprüleşmeler
5		Belirgin (P-P) ve (P-C) köprüleşmeler ve nadir nodül formasyonu
6		Siroz

Hepatit C virus- İnsan immun yetmezlik virusu koinfeksiyonu

Bulaş yolu nedeniyle bu iki infeksiyonun birarada görülmesi nadir değildir. HIV infeksiyonu olan hastaların üçte birinin HCV ile de koinfekte olduğu belirtilmektedir. HIV infeksiyonunun sağaltımı ile yaşamı tehdit eden fırsatçı infeksiyonların sıklığının dramatik olarak azaldığı izlenmektedir. Bunun sonucu olarak da HIV ile infekte hastalarda HCV infeksiyonu önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Viremi yükselmiştir, hepatik fibrozis hızı daha fazladır, karaciğer yetmezliği bu grup hastalarda daha sık görülmektedir. Sağaltım ile birlikte HIV ile infekte hastalarda son dönem karaciğer yetmezliğine bağlı ölüm beş kat artmıştır.

2.5. Tanı

2.5.1. Seroloji

Hepatit C virus enfeksiyonu tanısı için bugün kullanılan en pratik yöntem antikor aranmasıdır. Bu amaçla çeşitli rekombinant ve sentetik antijenlerin kullanıldığı EIA testleri geliştirilmiştir. Bu testlerin amacı HCV enfeksiyonlu hastaları saptamaktır. Bu nedenle duyarlılığı etkili kılmak için yapılandırılmış bir testtir. Bugüne dek 3 kuşak EIA testi kullanılmıştır. İlk kuşak testler tek bir rekombinant HCV klonundan (c100-3) elde edilmiş testlerdir. NS3 geninin bir kısmı ile NS4 gen ürününün neredeyse tamamını içermektedir. HCV epidemiyolojisi ile ilgili bilgilerimizin son derece artmasını sağlamış ve kan bankalarında tarama testi olarak kullanılmaya başlanması ile de transfüzyona bağlı hepatitlerin sayısında önemli düşüş sağlanmıştır. Ancak duyarlılıkları ve seçicilikleri düşük olup serokonversiyonu saptamada yetersiz kalmışlardır. İkinci kuşak EIA testleri öz (c22-3) ve NS3 (c33c) bölgesinden ek rekombinant proteinler içermektedirler. Üçüncü kuşak testlerde NS5'den bir protein eklenmiştir. Üçüncü kuşak testlerin duyarlılığı %99 civarında olup temastan 6-8 hafta sonra HCV antikorlarını saptamaktadırlar.⁹⁶ Kan donörlerinin taranması sonucu transfüzyona bağlı hepatit C enfeksiyonu vakaları nerede ise sıfırlanmıştır. Ancak halen sorunlar bitmiş sayılamaz: serokonversiyonun oluşumu üçüncü kuşak testlerde üç ile altı haftayı bulmaktadır, bağışıklığı baskılanmış kişilerde bu testler ile tanı koymak zordur ve düşük risk grubundaki kan donörlerinde hala yalancı pozitiflik elde edilebilmektedir.

2.5.2. Tamamlayıcı, konfirmasyon testleri

Bir kişide anti-HCV (EIA) pozitifliği, ALT değeri yüksekliği ve parenteral bir risk faktörü, aksi kanıtlanmadıkça aktif HCV enfeksiyonu göstergesidir. Bu kişilerde bir sonraki aşama HCV-RNA testi yapılmasıdır.

Özellikle düşük derecede HCV enfeksiyonu riski olan kan donörlerinde, yanlış pozitifliğe sık rastlanıldığı için, antikor seçiciliğinin doğrulanması gerekmekte ve ek testlere başvurulmaktadır. Bunun için EIA testlerinin geliştirilmesi ile koşut olarak doğrulama testleri de geliştirilmiştir. Bu testlerden en çok bilineni RIBA olarak adlandırılan 'rekombinant immunblot assay'dir. Burada da EIA'da kullanılan antijenler kullanılmakta, EIA'dan farklı olarak bu kez, her antijene karşı oluşmuş antikorlar ayrı ayrı saptanabilmektedir. Bu testlerde katı faz, EIA'dan farklı olarak nitrosellüloz bir banttir. Kullanılan antijenler rekombinant ya da sentetik antijenlerdir ve genellikle en az iki tanesine karşı pozitiflik testin doğrulanmış sayılması için yeterli kabul edilmektedir.

HCV'ye karşı oluşan IgM tipi antikorlarla da ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular IgM tipi antikor saptanmasının akut infeksiyon göstergesi olarak değeri olmadığı yönündedir.⁹⁷ Akut dönemde IgM saptanamayabildiği gibi, infeksiyonu geçirdikten sonra geç dönemde ortaya çıkabilmekte, kaybolmakta ya da uzun süre boyunca saptanabilmektedirler. Sonuç olarak HCV'ye özgü IgM'ler, HCV infeksiyonu sırasında herhangi bir zamanda saptanabilmektedirler.

2.5.3. Pencere dönemi sorunu ve yeni testler

HCV'nin direkt tanısında virusun kültürünün yapılamaması ve antijenin de saptanamamasından dolayı elde edilen tek olanak olan nükleik asit testleri kullanılmıştır. Ancak, hem özel teknoloji gerektirmeleri, hem de çok pahalı olmaları nedeniyle özellikle hızlı sonuç alınması gereken kan bankacılığında kullanıma girememiştir. Oysa ki, HCV infeksiyonunda pencere dönemi oldukça uzundur ve elde edilen tarama testleri (anti-HCV) her ne kadar çok geliştirilmiş de olsa bu dönemde kısılma sağlayamamaktadır. Bu durumda, nükleik asit testlerinin kan bankalarında uygulanmasını sağlamak ve HCV antijenini serumda saptamak yolu ile pencere dönemi kısaltılmalıdır.

Nükleik asit testlerinin kan bankalarında kullanılabilmesi için tarama yapılan kanların havuzlaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla iki ayrı firmanın ürünü onay almıştır. Bunlar; UltraQual HCV-RT-PCR-Assay (National Genetics Institute, Los Angeles, CA) ve Procleix HIV-1/HCV Assay (Gen-Probe, Inc, San Diego, CA)'dır.

HCV antijenini serumda saptamak için de Ortho firması bir kit geliştirmiştir. Yapılan ön çalışmalarda serumda HCV antijeninin başarıyla saptanabildiği gösterilmiştir.⁹⁸⁻¹⁰⁰

2.5.4. Nükleik asit testleri

Aktif HCV infeksiyonlarının tanısı, serum/plazma HCV-RNA'nın saptanması ile gerçekleştirilmektedir. HCV-RNA miktarı, kronik HCV infeksiyonunda hastalığın seyri ve sağaltımın takibinde önemlidir. Serumdaki HCV-RNA'yı saptayabilmek için hem kalitatif hem de kantitatif testler geliştirilmiştir.

2.5.4.1. Kalitatif Testler

HCV-RNA'nın saptanmasında RT-PZR (gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi) testi kullanılmaktadır. Bu yöntemde viral RNA elde edildikten sonra, 5'UTR bölgesi oligonükleotid primerleri kullanılarak cDNA elde edilir ve daha sonra PZR ile

çoğaltılmaktadır. Bazı laboratuvarlarda tek basamaklı PZR, bazı laboratuvarlarda ise iki basamaklı PZR (nested-PZR) kullanılmaktadır. Tek basamaklı PZR'in duyarlılığı ve seçiciliği HCV spesifik probolar kullanılarak artırılmıştır. Bu testlerde DNA amplifikasyon ürünleri, işaretli oligonükleotid probolarla hibridize edilmekte ve hibridize edilmiş ürün, çeşitli yöntemlerle saptanmaktadır.¹⁰¹

Tablo 4. Ticari kalitatif nükleik asit testleri (NAT)

Test	Yöntem	Üretici	Analitik duyarlılık (IU/mL)
AMPLICOR HCV v 2.0	RT-PCR	Roche	50
AMPLISCREEN HCV v 2.0	RT-PCR	Roche	<50
VERSANT HCV-RNA	TMA	Bayer	5
PROCLEIX HIV-1/HCV	TMA	Chiron	<50

RT-PZR:Gerçek zamanlı PZR

TMA:Transcription mediated amplification

Amplior HCV testi bir çok laboratuvarında kullanılmaktadır. Bu testin yarı otomatik ve otomatik iki şekli bulunmaktadır. Otomatik olarak çoğaltma ve saptama yapabilen COBAS Amplior HCV testidir. Yapılan çok merkezli çalışmalarda bu iki testin duyarlılığı ve seçiciliği araştırılmış, COBAS Amplior HCV'nin duyarlılığı ve seçiciliği sırasıyla %96 ve %100, Amplior testinin ise sırasıyla %95 ve %100 bulunmuştur.¹⁰²

Yine son zamanlarda bir TMA (Transcription mediated amplification) testi olan VERSANT HCV-RNA kalitatif testi de kullanıma girmiştir. Bu testte her üç basamak (RNA eldesi, RNA çoğaltılması ve hibridizasyon ile çoğaltılmış RNA'yı spesifik saptama) tek tüpte gerçekleşmektedir. Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada duyarlılığı %100 ve seçiciliği >%98 olarak saptanmıştır.¹⁰³ Ticari kalitatif nükleik asit testleri (NAT) Tablo 4'de gösterilmiştir.

2.5.4.2. HCV RNA miktarının belirlenmesi

HCV enfeksiyonunun tanısında kullanılan yöntemlerin en sonuncusu HCV-RNA miktarının saptanmasıdır. Özellikle kronik HCV enfeksiyonunda hastalığın progresyonu ve

sağaltıma yanıt hakkında önemli bilgi vermektedir. Bugün, kantitatif yöntemler PZR ve PZR dışı olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hedef molekül virusun RNA'sıdır. Tüm yöntemler çeşitli çoğaltma prensiplerini kullanmaktadırlar. Bunlardan günümüzde en sık kullanılan yöntemler; dallanmış probler-branched DNA (VERSANT 3.0 ASSAY, Bayer Corporation) testi ve kantitatif PZR'dir. Ticari kantitatif NAT testleri Tablo 5'de gösterilmiştir.

Dallanmış probler-branched DNA testi (VERSANT HCV RNA 3.0 ASSAY, Bayer)

İşaret (signal) çoğaltma yöntemidir. Burada çoğalan nükleik asitler değil onlara bağlanan 'işaretler'dir. Uygulanışı EIA testine benzer. Çeşitli probların hedef moleküle ve birbirlerine bağlanması sayesinde, tüm hibridizasyon aşamalarından sonra her bir hedef moleküle 855 adet prob bağlanmış olur. Lüminesan substratla elde edilen 'işaret'in ölçümü hedef molekül sayısı ile orantılıdır. Sonuçlar 'genome equivalents/ml (Eq/ml) olarak verilir. Bu tekniğin kontaminasyon riski düşük ancak daha az duyarlıdır.

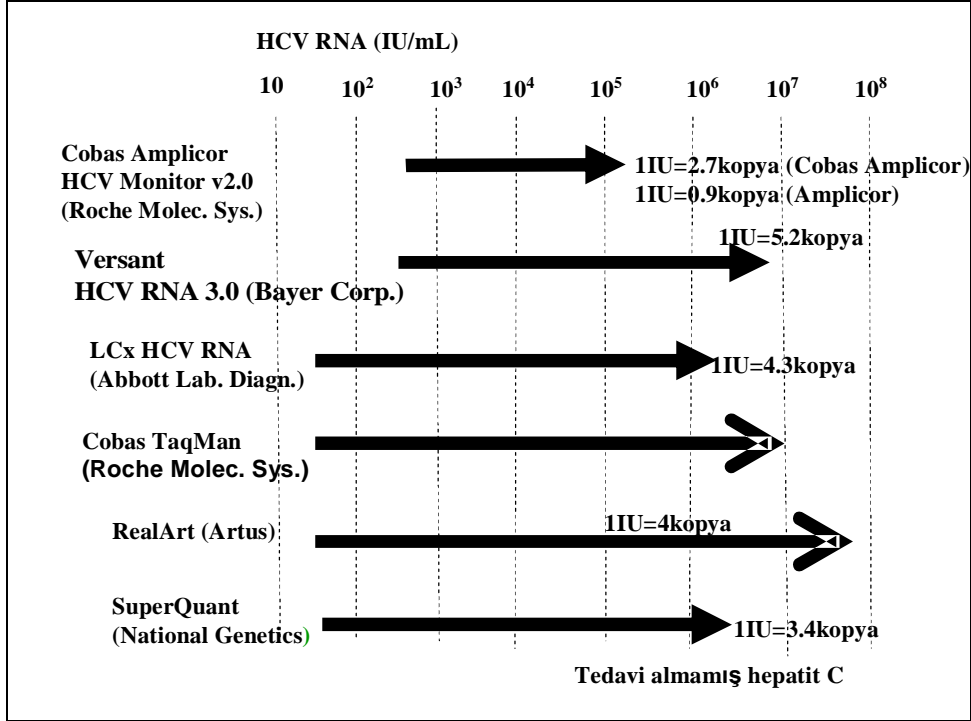
Kantitatif PZR

Amplior HCV monitor testi (Roche Diagnostic Systems), PZR temelinde çalışan bir sistemdir. Bir 'internal standart' içerir ve hedef molekül ile aynı tüpte ve aynı koşullarda çoğaltma uygulanmaktadır. Böylece ilk aşamadan itibaren tüm koşullar kontrol edilebilmektedir. Çoğaltma sonrası, ürünler ayrı problarla kaplı mikrodilüsyon plaklarında seri sulandırımalarla hibridize edilmektedirler. Sonuçlar IU/ml şeklinde verilmektedir. Bu testler bDNA (branched DNA) testlerinden daha duyarlıdır. Ancak, yüksek viral yük düzeylerini ölçmede bDNA testleri diğerlerinden daha iyidir.¹⁰⁴ HCV RNA testlerinin kantitasyon aralıklarının karşılaştırılması Şekil 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Ticari kantitatif NAT'lar

Test	Yöntem	1 IU/mL	Dinamik aralık (IU/mL)
AMPLICOR HCV MONITOR v 2.0	RT-PCR	2.7 k/mL	600 – 500.000
VERSANT HCV RNA v 3.0	bDNA	5.2 k/mL	615 – 7.700.000
LCx HCV RNA Quantitative	LCR	3.8 k/mL	25 – 2.630.000
Artus HCV-RNA	Real-time PCR	4.0 k/mL	20 – 3.000.000
Cobas TaqMan 48			43 – 69.000.000

Henüz HCV kültürünün yapılamamış olması, serumda dolaşan HCV partiküllerinin ne kadarının 'infektif', ne kadarının 'defektif' partiküller olduğunun saptanmasına olanak tanımamaktadır.



Şekil 5. HCV RNA testlerinin kantitasyon aralıklarının karşılaştırılması

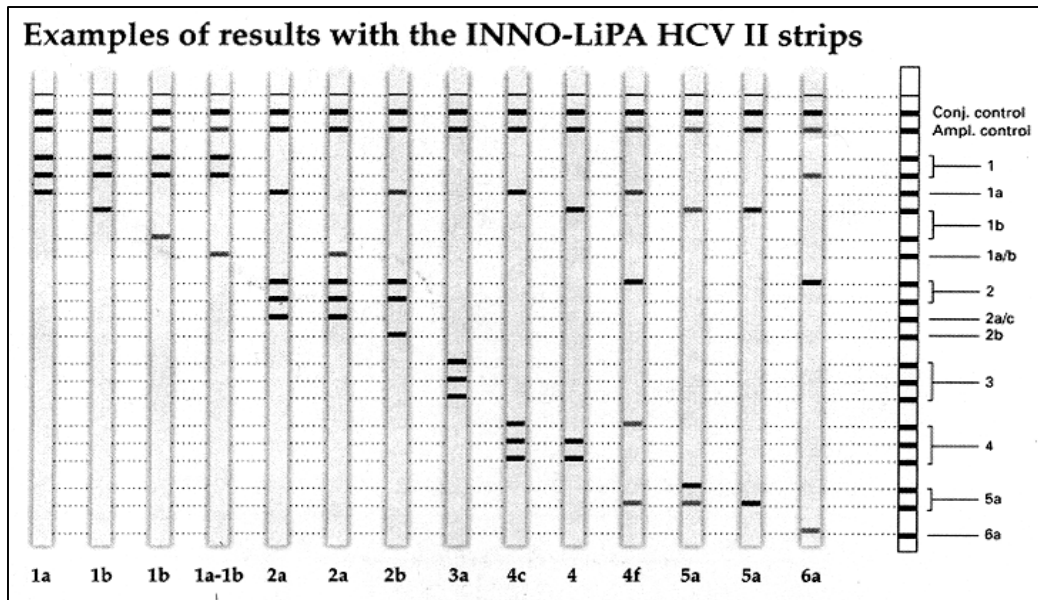
2.5.5. Genotip Testleri

Sağaltıma yanıtın tahmini için genotip belirlenmesi önemlidir. Genotip belirlemede genotiplere özgü ayırt edici nükleik asit dizileri bulunduran genomik bölgeler seçilmektedir. Elde edilen dizinin filogenetik analizi ile genotip belirleme altın standart kabul edilmektedir. Ancak daha basit ve maliyeti düşük genotiplere özgü dizilerin restriksiyon enzim kesim bölgelerine göre RFLP (restriction fragment length polymorphism), özgül PZR, hibridizasyon teknikleri, heterodubleks mobilite teknikleri, tek-sarmallı konformasyon çeşitliliğine dayalı yöntemler SSCP (single-stranded conformational polymorphism), CFLP (cleavage fragment length polymorphism) teknikleri de kullanılmaktadır (Tablo 6).

Tablo 6. Genotipleme testleri

TEST	YÖNTEM	ÜRETİCİ	GENOM BÖLGESİ	SUBTİPLEME ORANI DUYARLILIĞI
INNO-LIPA HCV-II	PCR+ters hibridizasyon	Innogenetics (Bayer)	5'-NCR	% 74
TRUGENE HCV 5'-NCR GENOTYPING	PCR+sekanslama	Visible Genetics(Bayer)	5'-NCR	% 76

Viral genotip belirlenmesi, viral yük ile birlikte sağaltım dozu ve süresini belirlemede önemlidir. Ters hibridizasyon temeline dayanan ticari kitlerin uygulanması daha kolay olduğu için genelde bu kitler laboratuvarlarda kullanılmaktadır (Şekil 6). Bu yöntemde naylon ve nitroselüloz şeritlerin üzerine bant şeklinde genotipleri ayırt edici nükleik asit dizilerini içeren problemler yapıştırılmıştır. Klinik örneklerden elde edilen nükleik asitler PZR ile çoğaltıldıktan sonra bu şeritler üzerinde hibridizasyon yapılmakta, EIA formatındaki saptama sistemi ile değerlendirilmektedir.



Şekil 6. HCV genotiplerinin tersine hibridizasyon yöntemine dayalı 'line probe assay' (LIPA) ile belirlenmesi.

2.6. Sağaltım

Sağaltımın amacı, komplikasyonları ve HCV infeksiyonundan ölümleri önlemektir. Kronik hepatit C infeksiyonunun yavaş seyretmesinden dolayı sağaltımın komplikasyonları engellediğini göstermek zor olmaktadır. Bu nedenle, sağaltım yanıtını değerlendirmek için klinik sonuçlar yerine virolojik parametreler kullanılmaktadır. Kısa dönem sonuçlar, biyokimyasal (ALT değerlerinin normalizasyonu), virolojik (duyarlı bir PZR yöntemi ile serumda HCV-RNA kaybının gösterilmesi) ve histolojik (nekroinflamatuvar yanıtta >2 puan iyileşme ve fibrozis skorunda kötüleşme olmaması) olarak değerlendirilmektedir.^{105,106}

Tüm kronik hepatit C infeksiyonlu hastalar potansiyel olarak sağaltım adayıdır. Sağaltımdan elde edilecek faydalar ve sağaltım riskleri değerlendirildikten sonra sağaltım kararı verilmelidir. Hastanın yaşı, genel sağlık durumu, siroz riski, yanıt şansı ve beklenen yaşam süresi ile kullanılacak olan PEG-IFN ve ribavirinin kontrendikasyonu sağaltım kararını etkileyecek faktörlerdir. Genel kural olarak, histolojik ve virolojik açıdan kronik infeksiyon bulgusu gösterenler sağaltım için uygun hastalardır. Bu hastalarda ölçülebilir HCV-RNA düzeyi, karaciğer biyopsisinde portal ya da köprüleşme fibrozisi ve orta dereceli inflamasyon ve nekroz ile persistan olarak ALT yüksekliği bulunmaktadır (Tablo 7). Bazı hastalarda risk ile sağaltım yararı arasındaki ilişki belirgin değerildir, bu hastalar bireysel olarak değerlendirilmelidir (Tablo 8).

Tablo 7. Sağaltıma kabul edilecek hastaların özellikleri³³

- Onsekiz yaş ve üzerinde olmak
- Yüksek ALT değerleri
- Karaciğer biyopsisi anlamlı fibrozis (portal fibrozdan fazlası;METAVİR skoru ≥ 2 , Ishak skoru ≥ 3) ile kronik hepatit özelliği gösterenler
- Kompanze karaciğer hastalığı olanlar (total bilirubin <1.5gr/dl, INR <1.5, albumin >3.4 gr/dl, trombosit >75.000/mm³ ve hepatik ensefalopati ve asit bulgusu olmayanlar)
- Kabul edilebilir sınırlarda hematolojik ve biyokimyasal bulgular(hemoglobin erkekler için >13gr/dl, kadınlar için >12 gr/dl, nötrofil sayısı>1500/ mm³, kreatinin <1.5 mg/dl)
- Majör depresyon olmaması veya kontrol altında depresyon varlığı

Çocuklarda hastalığın ilerlemesi yavaştır, olguların çoğu benign bir seyir gösterir ve spontan viral klirens daha sıktır. Çocuklarda yapılmış klinik çalışmalar oldukça az olup 'Food and Drug Administration (FDA)', 3-17 yaş arası çocuklarda interferon+ribavirin sağaltımını onaylamıştır.

Tablo 8. Bireysel olarak değerlendirilip sağaltım kararı verilecek olan hastalar³³

- Normal ALT düzeyi olanlar
- Daha önceden verilen IFN, IFN+ribavirin veya PEG-IFN tekli sağaltımlarında başarısızlık (cevapsızlar ve nüksedenler)
- Karaciğer biyopsisinde fibrozisi hafif veya olmayanlar (portal fibrozis, METAVİR<2, Ishak skoru<3)
- HIV ile koinfeksiyon varlığı
- Onsekiz yaşın altında olanlar
- Kronik böbrek yetmezliği olanlar (±hemodiyaliz)
- Dekompanze siroz varlığı
- Karaciğer transplantasyonu yapılanlar

Tablo 9. Sağaltımın kontrendike olduğu durumlar³³

- Kontrol altında olmayan majör depresyonu olanlar
- Böbrek, kalp veya akciğer nakli yapılanlar
- Otoimmün hepatiti olanlar veya IFN+ribavirin ile tablosu alevlenenler
- Tedav,edilmemiş hipertroidisi olanlar
- Gebeliği olan veya yeterli kontrasepsiyon uygulamayanlar
- Kontrol altında olmayan eşlik eden ciddi hastalığı olanlar (hipertansiyon, kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı, kontrol altında olmayan diyabet, obstrüktif akciğer hastalığı)
- Üç yaştan küçük olan çocuklar
- Hepatit C tedavisinde kullanılan ilaçlara aşırı duyarlılığı olanlar

Bunun yanında örneğin alkol alımı IFN sağaltımına yanıtı düşürürken, hastalığın ilerlemesini ve HSK gelişimini hızlandırır. Altta yatan otoimmün hastalığı olanlarda IFN

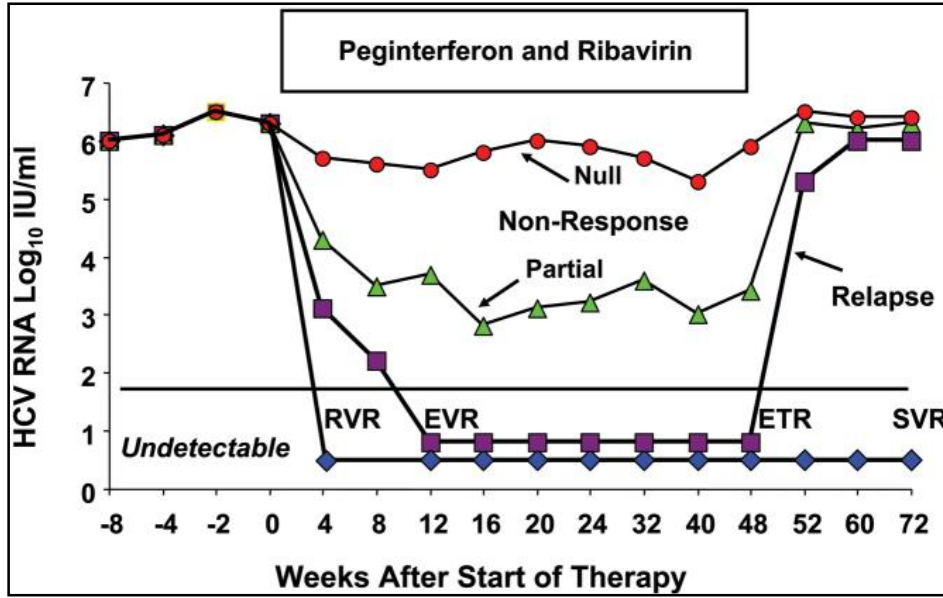
sağaltımı hastalığı alevlendirebilir. Sağaltımın kontrendike olduğu durumlar Tablo 9’da gösterilmiştir.

2.6.1 Viral yanıt şekilleri

Sağaltım zamanlamalarına göre çeşitli virolojik yanıt tipleri mevcuttur. Bunların içerisinde en önemli olanı ‘kalıcı virolojik yanıt (KVY)’dır ki, sağaltımın kesilmesinden 24 hafta sonra dahi kanda HCV-RNA’nın negatif olmasını ifade etmektedir. Bu durum ‘virolojik iyileşme’ olarak tanımlanmaktadır.

Yirmidört ya da 48 haftalık sağaltım sonrası HCV-RNA saptanamaz düzeyde ise ‘sağaltım sonu yanıt’ olarak tanımlanmaktadır. Ancak bu durum, KVY gelişeceğini kesin olarak ifade etmemekle birlikte bu yanıtın oluşması KVY gelişimi için olumlu bir durumdur.

‘Hızlı virolojik yanıt (HVY)’ ise sağaltımın dördüncü haftasında kanda HCV-RNA’nın saptanamaz düzeye inmesini ifade etmektedir. ‘Erken virolojik yanıt (EVY)’ ise sağaltımın 12. haftasında serum HCV-RNA’da ≥ 2 log düşme ya da saptanamaz düzeyde olmasını tanımlamaktadır. EVY’nin oluşmaması kalıcı virolojik yanıtın gelişme ihtimalinin çok düşük olduğunu göstermektedir. Sağaltım sırasında oluşan virolojik yanıt tipleri Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7. Sağaltım sırasında oluşan virolojik yanıt tipleri ¹⁰⁵

RVR: Hızlı virolojik yanıt, EVR: Erken virolojik yanıt, ETR: Sağaltım sonu yanıt
SVR: Kalıcı virolojik yanıt

Virolojik yanıtızsızlık HCV-RNA’nın negatifleşmemesi durumudur, relaps ise sağaltım bitiminde yanıt alındıktan sonra HCV-RNA’nın serumda yeniden saptanmasıdır.

2.6.2. Kombinasyon sağaltımı

Kronik hepatit C infeksiyonunda, günümüzde önerilen sağaltım pegile interferon ve ribavirin kombinasyonudur. Bu sağaltım rejimi, pegile interferon ve ribavirin kombinasyonunun, standart interferon alfa ve ribavirin kombinasyonuna belirgin üstünlük sağladığını gösteren çok önemli, randomize üç çalışmanın sonuçlarını temel almaktadır.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Bu üç çalışmada, ilaçların uygun dozları, sağaltım için optimal süre ve genotip 1 ve genotip 2, 3 hastaları için gerekli değişik sağaltım rejimleri saptanmıştır.

Günümüzde uygulanan iki tip pegile interferon bulunmaktadır. Peginterferon alfa-2b (Peg-Intron, Schering Plough Corp.); standart interferon alfa-2b molekülüne 12kd lineer polietilen glikol (PEG) kovalan bağlanması ile oluşmaktadır. Peginterferon alfa-2a (Pegasys, Hoffmann-La Roche) ise standart interferon alfa-2a molekülüne 40kd lineer dallı polietilen glikol (PEG) kovalan bağlanmıştır. Her iki pegile interferonun dozları birbirinden farklıdır.

Peginterferon alfa-2b'nin sağaltım dozu 1.5µg/kg/hafta olarak uygulanmaktadır. Ribavirin dozu standart 800 mg/gün olarak belirtilmektedir. Ancak genotip 1 hastalarında bu dozun hastanın kilosuna göre düzenlenmesi önerilmektedir (<65 kg için 800 mg/gün, 65-85 kg için 1000 mg/gün, 85-105 kg için 1200 mg/gün ve >105 kg ancak <125 kg için 1400 mg/gün).¹⁰⁸

Peginterferon alfa-2a'nın ise standart olarak 180 µg/hafta subkutan yolla verilmesi önerilmektedir. Ribavirin ise ≤75 kg hastalara 1000 mg/gün, >75 kg ise 1200 mg/gün dozda verilmesi önerilmektedir. Peginterferon sağaltımına ribavirin eklenmesi, peginterferon monoterapisine göre relaps oranında belirgin azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.¹⁰⁶

Son randomize çalışmada, sağaltımda optimal sürenin genotipe bağlı olduğu belirtilmiştir. Genotip 1 hastaları mutlaka 48 hafta peginterferon alfa-2a ve kiloya uyarlanmış dozda ribavirin ile sağaltım almalıdırlar. Genotip 2 ve 3 hastaları ise peginterferon alfa-2a ve standart (800 mg/gün) dozda ribavirin ile 24 hafta sağaltım almalıdırlar.¹⁰⁷

Genotip 4 hastaları için ise altı randomize çalışmanın toplandığı bir meta-analizde 48 haftalık peginterferon alfa-2a ve kiloya uyarlanmış dozda ribavirinin en uygun sağaltım şekli olduğu belirtilmiştir.¹⁰⁹

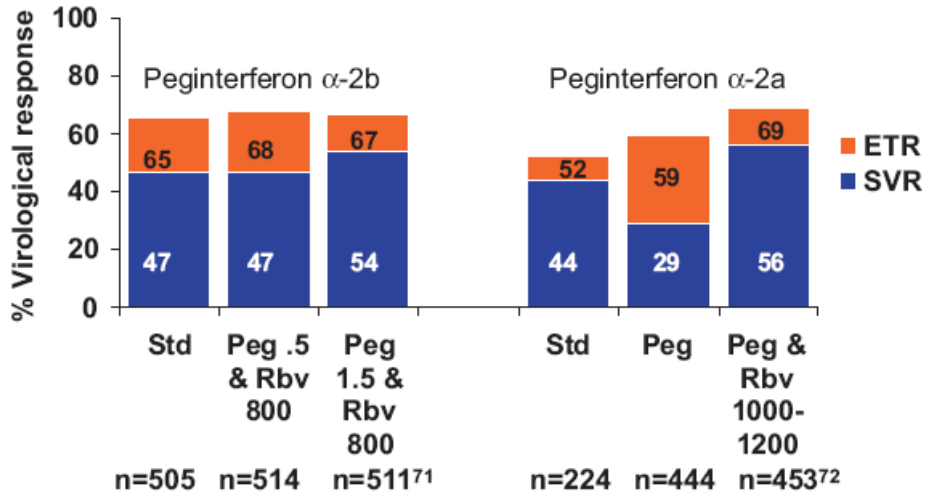
Genotip 5 ve 6 dünyada nadir görüldüğünden dolayı, sağaltım açısından üç çalışmada da bu genotiplerle ilgili yeterli veri bildirilememiştir.

Mevcut kombinasyon terapisi ile kalıcı virolojik yanıt, genotip 1 hastalarında %42-46, genotip 2 ve 3 hastalarında %76-82 olmaktadır.

Pegile interferon ve ribavirin kombinasyon sağaltımı alan hastaların yaklaşık %30'u virüsü serumdan eradike edememektedir. Bu rejime yanıtız olgular için sağaltım seçeneği sınırlıdır. Aynı rejimle yeniden sağaltım sonrası KVY hastaların <%5'de geliştiği için bu rejim önerilmemektedir.

Relaps olgularına aynı sağaltım rejimi uygulanması ile kalıcı virolojik yanıt alındığına dair deneyimler bulunmaktadır. Yüksek doz peginterferon alfa-2b, 1.5µg/kg/hafta ve 800 mg ribavirin ile düşük doz peginterferon alfa-2b, 1µg/kg/hafta ve 1000-1200 mg ribavirin yanıtına bakıldığında genel KVY oranı %42, yüksek doz PEG-IFN alan grupta %50, düşük doz alan grupta ise %32 olarak belirtilmiştir. ¹¹⁰ İki Randomize çalışmada peginterferon ve ribavirin rejimi ile oluşan virolojik yanıt sonuçları Şekil 8'de gösterilmiştir. ¹¹¹

Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalarda ALT değerleri dalgalanma göstermektedir. Bu nedenle, normal ALT düzeyli hasta tanımı altı aylık bir süreçte en az birer ay ara ile iki ya da üç kez ölçülen serum ALT düzeyinin 40 IU/L 'nin altında saptanmasıdır.



Şekil 8. İki Randomize çalışmada peginterferon ve ribavirin rejimi ile oluşan virolojik yanıt. ¹¹¹

Normal ALT düzeyli hastalarda karaciğerde belirgin fibrozis ve hatta siroz olabildiği izlenmiştir. Bu hasta grubuna sağaltım başlamak için karaciğer biyopsisi yapılp tanının konması gerekmektedir. Sağaltım verilen hastalarda KVY, yüksek ALT düzeyli hasta grubuna benzemektedir.

HIV ile infekte tüm hastalara mutlaka anti- HCV tetkiki yapılmalıdır. Anti-HCV pozitifliği ya da açıklanamayan karaciğer hastalığı durumunda HCV-RNA kontrolü yapılmalıdır. Bu hastalarda eğer ciddi karaciğer hasarı varsa sağaltım verilmelidir. Morbiditeye neden olabilecek sağaltım yan etkileri açısından değerlendirilip buna göre sağaltım planlanmalıdır. Başlangıç sağaltımı, diğer hastalarda olduğu gibi peginterferon alfa ile birlikte ribavirinin 48 hafta uygulanması şeklindeyir. Bu rejim FDA tarafından da onaylanmıştır. Bu rejimin üstünlüğü dört büyük çalışmada gösterilmiştir. KVV genotip 1 hastalarında %29, genotip 2 ve 3 hastalarında %62 olarak belirtillmiştir. ^{112,113}

2.6.3. Yeni sağaltım seçenekleri

2.6.3.1. Proteaz inhibitörleri

Telaprevir (VX-950) ve Boceprevir (SCH 503034) HCV'nin NS3/NS4A bölgesine bağlanmaktadır. cl kombinasyon ile kalıcı virolojik yanıt oranları yüksektir. ^{114,115}

2.6.3.2. Polimeraz inhibitörleri

Valopicitabine, R1626, HCV-796, R7128 yeni polimeraz inhibitörleri olup diyare, şiddetli lenfopeni ve karaciğer enzimlerinde aşırı yükselme gibi yan etkiler nedeniyle çalışmaları durdurulmuştur.

Sonuç olarak, yeni antivirallerin PegIFN+ribavirin ile birlikte verildiklerinde yüksek antiviral etkinlikleri vardır ancak tek başına verildiklerinde direnç gelişimi sorunu bulunmaktadır. Bu durum proteaz inhibitörlerinde daha sık görülmektedir.

2.6.6. Yan etkiler ve izlem

İnterferon kullanımı sonucu grip benzeri bulgular, kemik iliği baskılanması, nöropsikiyatrik bulgular, yorgunluk ve iştahsızlık, kilo kaybı, tiroid fonksiyon bozukluğu, kardiyak bozukluklar, pulmoner semptomlar, sa dökülmesi, böbrek bozukluğu, intertisiyel nefrit, bakteri infeksiyonları ve hepatotoksisite gibi yan etkiler karşımıza çıkabilmektedir.

Pegileinterferon nötrofil sayısını standart interferona göre daha fazla düşürmektedir. İlk iki haftada düşüş fazla olmaktadır. Sağaltım süresince düşük düzeylerde kalmakta ancak sağaltım kesilince hızla ilk değerlere yükselmektedir. Nötrofil sayısı <750 /mm³ olduğunda doz azaltılabilir.

Ender olarak doz azaltılmasına veya sağaltım sonlandırmasına gereksinim olacak düzeyde trombositopeni gelişmektedir.

Ribavirin kullanımı ile doza bağlı anemi, damar dışı hemoliz, yüksek dozlarda kemik iliği kırmızı seri hücre yapımının baskılanması gibi yan etkiler gelişebilmektedir. Geri dönüşümlü

serum bilirubin, demir ve ürik asit artışı görülebilmektedir. Diğer yan etkiler arasında kaşıntı, kas ağrısı, döküntü, bulantı, depresyon, sinirlilik hali, öksürük veya solunum şikayetleri bulunmaktadır. Mutajenik, gonadotoksik ve teratojendir.

Anemi gelişmesi durumunda hemoglobin 10 g/dL altına düşerse doz azaltılmalıdır. Eritropoetin alfa 40,000 U/hafta uygulanabilmektedir.

Pegileinterferon ve ribavirin sağaltımı alanların yaklaşık %20-30'unda depresyon görülmektedir. Doz azaltılması veya sağaltımın sonlandırılmasını gerektirecek kadar ağır tablolar oluşabilmektedir. Antidepresanlar yararlı olabilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Örneklem grubu

Bu çalışmadaki amaç, tükürükte hepatit C virusuna karşı bulunan antikorlar ile kandaki hepatit C virus RNA'sı arasındaki ilişkiyi araştırmak ve epidemiyolojik çalışmalarda bu yöntemin kullanılabilirliğini ve geçerliliğini saptamaktır. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilecek sayı hesaplanarak 75 anti-HCV(+) hasta ve 75 anti-HCV(-) kontrol olmak üzere toplam 150 olgu çalışmaya dahil edildi.

Bunlardan 75'i, Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğinde izlenen, bir kısmı sağaltım almış, bir kısmı ise sağaltım almamış anti-HCV(+) hastalardan oluştu. Diğer 75 kişi ise yine Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji polikliniğine hepatit dışı nedenlerle başvuran anti-HCV(-) hastalardan oluştu.

Çalışmaya katılan olgulara, çalışmanın amacı ile ilgili bilgi verildi, gönüllü onam formları okutuldu ve kişilerin onamı alındı. Gönüllülerin epidemiyolojik ve demografik verileri kayıt altına alındı.

3.2. Örnek toplanması

Çalışmaya katılan olgulardan tükürük ve kan örnekleri aynı anda alındı.

3.2.1. Tükürük örneklerinin toplanması

Günümüzde tükürük örneği almak için geliştirilmiş ticari kitler bulunmaktadır.

Çalışmamızda hazır ticari tükürük toplama kitleri yerine, daha önce bu amaçla kullanılmamış olan 'Biotène Dry Mouth Care Pak' markalı ağız bakım seti içinde bulunan, steril, ağız içi temizleme süngerleri kullanıldı (Resim 1). Sünger çubuklar, gönüllülere yaklaşık iki dakika emdirildi. Daha sonra tükürük emdirilmiş çubuklar, santrifüj sırasında örneğin dipte çökmesini sağlamak amacıyla, tarafımızca geliştirilen örnek tüplerine yerleştirildi.



Resim 1. ‘Biotène Dry Mouth Care Pak’ seti içinde steril şekilde bulunan sünger çubuk

Bu amaçla örnek tüpleri, içine pipet ucu yerleştirilmiş, dibi konik cam tüplerden oluşturuldu. Bu tüplerin içerisine bakteri, mantar üremesini önleyen ‘UTM Universal Viral Transport Medium’ sıvı transport besiyerinden eklendi. Son olarak içine emdirilmiş çubuk yerleştirilen tüp, üzeri parafilm bantla kapatılarak 15 dakika 3000 devirde santrifüj edildi. Çöken tükürük örneği iki adet steril ependorfa konarak testin çalışılacağı güne kadar -20°C ’de saklandı.

3.2.2 Kan örneklerinin toplanması

Kan örnekleri ise venöz damarlardan vakumlu 8 ml ‘lik tüplere alındı. On beş dakika 3000 devirde santrifüj edildikten sonra ayrılan serum örneği steril ependorflara konuldu ve -20°C ’de Dokuz Eylül Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD’da saklandı. HCV seropozitif hastalardan HCV-RNA çalışılması için alınan kan örneklerinden serumlar RNA ekstraksiyonu için uygun koşullarda ayrılıp stoklandı. Hedeflenen 150 olguya ulaşıldıktan sonra toplanan serum örnekleri Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi Merkez Laboratuvarı’na gönderildi. Serum anti-HCV testleri seroloji laboratuvarında Architect i2000 SR cihazıyla, anti-HCV pozitifliği bulunan 75 serum örneğinin HCV-RNA testleri ise PZR laboratuvarında Arthus HCV-RG-RT-PCR kiti ile çalışıldı.

3.3. Laboratuvar yöntemi

Tüm tükürük örnekleri ‘Ortho HCV3.0 SAve ELISA serolojik test kiti ile çalışıldı. Belirtilen test kiti, 3. kuşak bir ELISA testidir ve anti-HCV IgG’yi saptamaktadır.

Ortho HCV3.0 SAve ELISA kiti serum için önerilmektedir. Tükürük için önerilen bir kit henüz mevcut değildir. Tükürükteki antikor miktarı ise seruma göre 1/800 oranındadır. Bu nedenle duyarlılığı artırmak amacı ile Ortho HCV3.0 SAve ELISA kiti tükürük için modifiye edildi ve tükürük örnekleri modifiye protokol ile çalışıldı.^{116,117}

Ortho HCV3.0 SAve ELISA Modifiye Tükürük Protokolü

- 1) Tükürük ve kontrol örneklerinden 110'ar µL plaktaki her bir kuyucuğa ayrı ayrı konuldu.
- 2) Örneklerin üzerine 110'ar µL dilüent eklendi.
- 3) Plaklar oda sıcaklığında (15-30 °C), bir gece (16 -24 saat) çalkalanarak bekletildi.
- 4) Ertesi gün plaklar beş kez Ortho HCV3.0 SAve ELISA kiti içinde bulunan yıkama solüsyonu (wash buffer) ile yıkandı.
- 5) 200'er µL konjugat (murine anti-human monoclonal IgG conjugated to horseradish peroxidase) her kuyucuğa eklendi ve oda sıcaklığında 3 saat inkübe edildi.
- 6) Plaklar beş kez Ortho HCV3.0 SAve ELISA kiti içinde bulunan yıkama solüsyonu (wash buffer) ile yıkandı.
- 7) 200'er µL substrat eklendi. Karanlıkta 30 dakika bekletildi.
- 8) Reaksiyon 50'şer µL 4N sülfirik asit eklenerek durduruldu.
- 9) Absorbans 490 nm'de okutuldu.

3.4. İstatistiksel yöntem

İstatistiksel analizler için SPSS 11.5 paket programı kullanıldı.

Anti-HCV 3.0 ELISA kiti serum örnekleri için uygun bir kit olması nedeniyle tükürük için modifiye edilip kullanıldı. Tükürük sonuçlarının değerlendirilmesi için ROC eğrisi çizildi. Eğri altında kalan alan değerlendirilmeye alındı. Duyarlılık ve seçiciliği en uygun nokta eğri üzerinde saptandı. Bu nokta cut-off değer olarak alınıp cut-off değeri ve üzeri pozitif, cut-off değerinin altı ise negatif olarak kabul edildi.

Bunların yanında dört gözlü tablo kullanılarak; duyarlılık, seçicilik, olumlu öngörü ve olumsuz öngörü değerleri hesaplandı.¹¹⁸

4. BULGULAR

Çalışmaya 71 erkek ve 79 kadın olgu katıldı. Kontrol grubunda 34 erkek (%45,3) ve 41 kadın olgu yerilirken, hasta grubunda ise 37 erkek (%49,3) ve 38 kadın hasta bulunmaktaydı.

Hastaların yaşları 26-89 arasında değişmekteydi ve ortalama yaşları $57,73 \pm 14,8$ idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması $58,16 \pm 16,9$ yaş (26-86 yaş) iken hasta grubunun yaş ortalaması $57,29 \pm 12,5$ yaş (27-89 yaş) olarak bulundu.

Çalışmaya katılan hasta grubundaki olguların dokuzu (%1,2) hemodiyaliz hastasıydı. Bu hastalardan üçünün HCV-RNA düzeyi negatif idi.

Çalışmaya alınan deneklerin özellikleri Tablo 10 ve 11'de verilmiştir

Tablo 10. Serum anti-HCV (+) hasta grubunun özellikleri

Hasta no	Cinsiyet	Yaş	Serum anti-HCV	Tükürük anti-HCV	Serum HCV-RNA (IU/ml)
1	K	78	(+)	(+)	(-)
2	E	89	(+)	(+)	597.640
3	E	65	(+)	(+)	43.440
4	E	54	(+)	(+)	6.360
5	E	54	(+)	(+)	62
6	E	56	(+)	(+)	(-)
7	K	64	(+)	(+)	(-)
8	E	44	(+)	(+)	356.880
9	E	56	(+)	(-)	(-)
10	K	69	(+)	(+)	1.391.190
11	K	60	(+)	(+)	1.062.130
12	E	61	(+)	(+)	(-)
13	E	51	(+)	(+)	37.038
14	K	42	(+)	(+)	(-)
15	E	60	(+)	(+)	1.003.340
16	E	73	(+)	(+)	1.988.871
17	K	65	(+)	(+)	821.630
18	K	56	(+)	(+)	1.484.270
19	K	53	(+)	(+)	(-)
20	E	52	(+)	(+)	(-)
21	E	32	(+)	(+)	(-)
22	K	48	(+)	(+)	644.720

23	E	62	(+)	(+)	(-)
24	E	32	(+)	(+)	266.060
25	E	73	(+)	(+)	(-)
26	E	49	(+)	(+)	(-)
27	K	60	(+)	(+)	212.314
28	K	59	(+)	(+)	360.910
29	E	60	(+)	(+)	513.050
30	K	48	(+)	(+)	(-)
31	K	47	(+)	(+)	(-)
32	K	52	(+)	(+)	(-)
33	E	65	(+)	(+)	6.305.980
34	K	48	(+)	(+)	(-)
35	K	27	(+)	(+)	55.350
36	K	71	(+)	(+)	(-)
37	K	59	(+)	(+)	(-)
38	E	61	(+)	(+)	(-)
39	E	40	(+)	(-)	439.330
40	K	32	(+)	(-)	(-)
41	K	52	(+)	(-)	(-)
42	K	70	(+)	(+)	439.990
43	K	53	(+)	(+)	393.980
44	K	73	(+)	(-)	(-)
45	K	64	(+)	(+)	413.640
46	K	58	(+)	(+)	142.425
47	E	53	(+)	(-)	(-)
48	E	57	(+)	(+)	43.115
49	E	60	(+)	(+)	(-)
50	K	60	(+)	(+)	(-)
51	K	48	(+)	(+)	2.912.354
52	K	69	(+)	(+)	292.840
53	K	49	(+)	(+)	(-)
54	E	69	(+)	(+)	(-)
55	E	82	(+)	(+)	680.240
56	E	28	(+)	(+)	665
57	K	63	(+)	(+)	96.010
58	E	63	(+)	(+)	(-)
59	K	65	(+)	(+)	2.053.630

60	E	80	(+)	(+)	2.206.850
61	E	34	(+)	(-)	(-)
62	K	65	(+)	(+)	2.710.035
63	E	54	(+)	(+)	(-)
64	K	41	(+)	(+)	(-)
65	E	60	(+)	(+)	(-)
66	E	67	(+)	(+)	(-)
67	K	58	(+)	(-)	650
68	K	69	(+)	(+)	255.800
69	K	60	(+)	(+)	674.160
70	K	56	(+)	(-)	(-)
71	E	47	(+)	(+)	(-)
72	E	52	(+)	(+)	(-)
73	K	71	(+)	(+)	104.475
74	E	47	(+)	(-)	(-)
75	E	73	(+)	(+)	338.190

Tablo 11. Serum anti-HCV(-) kontrol grubunun özellikleri

Hasta no	Cinsiyet	Yaş	Serum anti-HCV	Tükürük anti-HCV
1	E	31	(-)	(-)
2	K	72	(-)	(-)
3	E	32	(-)	(+)
4	K	53	(-)	(-)
5	K	70	(-)	(-)
6	K	40	(-)	(-)
7	K	65	(-)	(+)
8	K	69	(-)	(+)
9	K	68	(-)	(+)
10	E	75	(-)	(-)
11	E	52	(-)	(-)
12	E	29	(-)	(-)
13	E	35	(-)	(+)

14	E	84	(-)	(-)
15	E	32	(-)	(-)
16	E	80	(-)	(-)
17	K	20	(-)	(-)
18	K	33	(-)	(+)
19	E	32	(-)	(-)
20	E	30	(-)	(-)
21	E	52	(-)	(+)
22	K	32	(-)	(-)
23	K	38	(-)	(-)
24	K	61	(-)	(-)
25	K	52	(-)	(-)
26	E	29	(-)	(-)
27	E	27	(-)	(-)
28	K	49	(-)	(-)
29	K	58	(-)	(-)
30	K	58	(-)	(-)
31	E	51	(-)	(-)
32	K	78	(-)	(-)
33	K	68	(-)	(-)
34	K	26	(-)	(+)
35	K	29	(-)	(-)
36	E	58	(-)	(-)
37	E	67	(-)	(-)
38	K	52	(-)	(-)
39	K	86	(-)	(-)
40	K	60	(-)	(-)
41	E	53	(-)	(-)
42	E	65	(-)	(-)
43	K	78	(-)	(-)
44	K	57	(-)	(-)
45	K	45	(-)	(+)
46	E	71	(-)	(-)
47	K	65	(-)	(-)
48	E	76	(-)	(-)
49	E	61	(-)	(-)
50	K	55	(-)	(-)

51	K	60	(-)	(-)
52	E	67	(-)	(-)
53	E	64	(-)	(+)
54	K	58	(-)	(-)
55	E	50	(-)	(-)
56	E	62	(-)	(-)
57	K	64	(-)	(-)
58	K	70	(-)	(-)
59	K	66	(-)	(-)
60	E	77	(-)	(-)
61	K	71	(-)	(-)
62	K	80	(-)	(-)
63	E	73	(-)	(-)
64	K	77	(-)	(-)
65	K	79	(-)	(-)
66	E	72	(-)	(-)
67	E	63	(-)	(-)
68	K	84	(-)	(-)
69	E	64	(-)	(-)
70	E	64	(-)	(-)
71	E	55	(-)	(-)
72	K	60	(-)	(-)
73	K	80	(-)	(-)
74	K	68	(-)	(-)
75	E	75	(-)	(-)

Hasta grubundaki 75 olgunun tümünün serum anti-HCV düzeyi pozitif bulundu. Bu grupta 65 (%86,7) hastada tükürükte de eş zamanlı olarak anti-HCV pozitifliği saptanırken, 10 (%13,3) hastanın tükürük anti-HCV düzeyi negatif bulundu. Tükürük anti-HCV değeri negatif saptanan 10 hastanın sekizinde (%10,7) serum HCV-RNA düzeyi de negatif olarak bulundu. Hasta grubunun modifiye Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA kiti ile değerlendirilen tükürük anti-HCV sonuçlarının plaktaki görünümü Resim 2’de izlenmektedir.

Hasta grubunda yer alan 75 kişiden 38 (%50,7)’nin serum HCV-RNA’sı pozitif olarak saptandı. HCV-RNA(+) saptanan hastaların 36 (%94,7)’sında tükürük anti-HCV(+) bulundu. HCV-RNA değeri (-) olan 37 hastanın da 29 (%78,4)’unda tükürük anti-HCV (+) bulundu.

Kontrol grubundaki 75 hastanın tümünde serumu anti-HCV testi negatifti. Bu gruptaki 65 (%86,7) hastanın tükürük anti-HCV değeri de negatif olarak saptandı. On (%13,3) hastada ise tükürük anti-HCV(+) saptandı. Kontrol grubunun modifiye Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA kiti ile değerlendirilen tükürük anti-HCV sonuçlarının plaktaki görünümü Resim 3’de izlenmektedir.

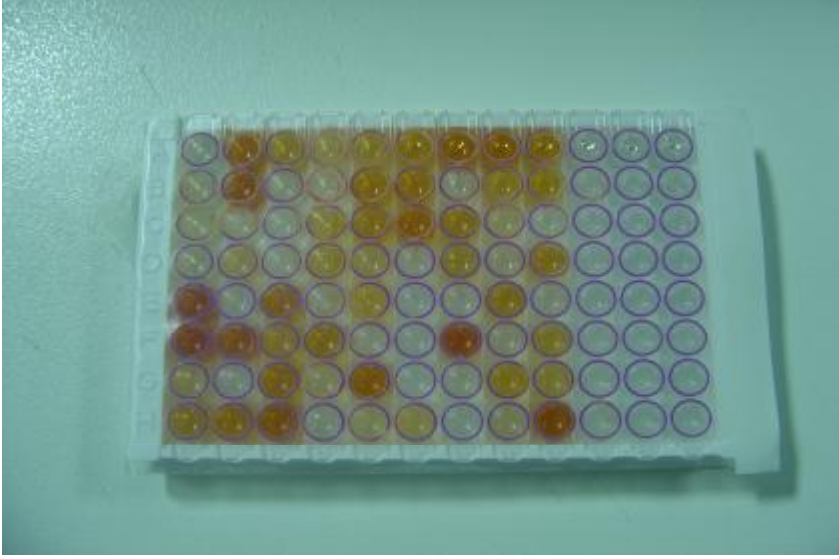
Hasta ve kontrol gruplarına ilişkin sonuçlar Tablo 12, 13, 14, 15, 16’da belirtilmiştir.

Tablo 12. Hasta grubunun Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA ile değerlendirilmiş tükürük örneklerinin sonuçları

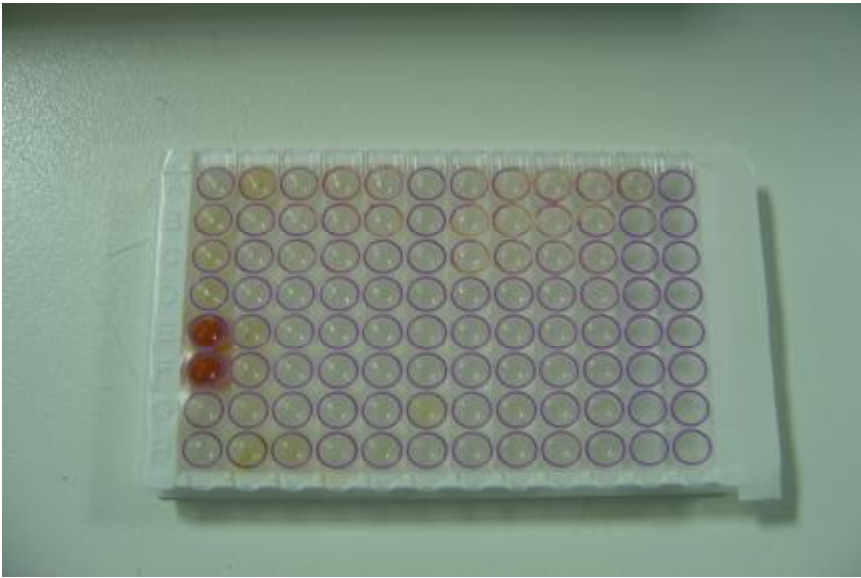
	SERUM ANTİ-HCV			Toplam
		Pozitif	Negatif	
TÜKÜRÜK ANTİ-HCV	Pozitif	65 (%86,7)	0	65 (%86,7)
	Negatif	10(%13,3)	0	10(%13,3)
	Toplam	75(%100)	0	75(%100)

Tablo 13. Kontrol grubunun Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA ile değerlendirilmiş tükürük örneklerinin sonuçları

	SERUM ANTİ-HCV			Toplam
		Pozitif	Negatif	
TÜKÜRÜK ANTİ-HCV	Pozitif	0	10 (%13,3)	10 (%13,3)
	Negatif	0	65 (%86,7)	65 (%86,7)
	Toplam	0	75 (%100)	75 (%100)



Resim 2. Hasta grubunun Ortho HCV 3.0 SAve ELISA ile tükürük örneklerinin değerlendirilmesi



Resim 3. Kontrol grubunun Ortho HCV 3.0 SAve ELISA ile tükürük örneklerinin değerlendirilmesi

Sonuçlar değerlendirildiğinde tükürük anti-HCV cut-off değeri 0,133 olarak saptandığında duyarlılık %86,7, seçicilik %86,7 olarak bulundu. Yalancı pozitiflik oranı %13,3 ve yalancı negatiflik oranı ise %13,3 olarak hesaplandı. Olumlu öngörü (PPV) %86,7 ve olumsuz öngörü (NPV) %86,7 olarak bulundu.

Tablo 14. Tüm olguların serum ve tükürük anti-HCV sonuçları

TÜKÜRÜK ANTI-HCV	SERUM ANTI-HCV			Toplam
		Pozitif	Negatif	
	Pozitif	65	10	75
	Negatif	10	65	75
	Toplam	75	75	150

Tablo 15. Hasta grubunun serumdaki HCV-RNA ve tükürük anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması

TÜKRÜK ANTI-HCV	SERUM HCV-RNA			Toplam
		Pozitif	Negatif	
	Pozitif	36	29	65
	Negatif	2	8	10
	Toplam	38	37	75

HCV-RNA altın standart olarak kabul edildiğinde tükürük anti-HCV testinin duyarlılığı %94,7, seçiciliği %21,6 olarak saptandı.

Tablo 16. Kullanılan testlerin istatistiksel anlamları

KULLANILAN TEST	DUYARLILIK	SEÇİCİLİK	OLUMLU ÖNGÖRÜ (PPV)	OLUMSUZ ÖNGÖRÜ (NPV)
Serum anti-HCV/ Tükürük anti-HCV	%86,7	%86,7	%86,7	%86,7
Serum HCV-RNA/ Tükürük anti-HCV	%94,7	%21,6	%55,4	%80

5. TARTIŞMA

Hepatit C virus infeksiyonu tüm dünyada yaygın, oldukça ciddi bir sağlık sorunudur. Dünyada yaklaşık 170 milyon kişi bu virus ile infekte olduğu varsayılmaktadır.²⁸ Gelişmekte olan ülkelerde, kaynak ve olanakların kısıtlılığı nedeniyle sınırlı veri elde edilmektedir. Bununla birlikte HCV prevalansının gelişmiş ülkelere göre gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir.

HCV ile infekte bireylerin büyük çoğunluğunda infeksiyon kronikleşmekte, siroz ya da hepatosellüler karsinoma ilerleyebilmektedir. Günümüzde, HCV'nin rutin tanısında serumda HCV antikörlerini (anti-HCV) tanıyan ELISA yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde iğne ile kan örneği elde edilmesi, gelişmiş metod ve pahalı ekipmanların kullanılması gerekmektedir. Bu ihtiyaçlar özellikle gelişmekte olan fakir ülkelerde kitle taramaları için uygun olmayabilmektedir.

Hepatit C virusunun tüm vücut sıvılarında bulunduğundan yola çıkılarak bu virusun varlığı, tükürük, idrar gibi vücut salgılarında araştırılmış ve antikor düzeyleri saptanmaya çalışılmıştır.

Birçok çalışmada tükürüğün, çeşitli infeksiyon hastalıklarının klinik tanısında ve aşı ile önlenabilir virus infeksiyonlarında bağışıklık düzeyini değerlendirmek için uygun bir örnek olabileceği belirtilmiştir.¹ Günümüzde tükürük alımı için duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek birtakım ticari kitler bulunmaktadır. Kan örneklerinin alınmasındaki göreceli zorluklar ve iğne batması sonucu gelişebilecek bulaşıcı infeksiyon riski söz konusu testleri çekici kılabilir.

Kan örneği almanın invaziv yapısı gereği genel popülasyondan tarama amaçlı toplu örnek alımında zorluklar yaşanmaktadır. Aksine, tükürük alınmasının kolay, güvenli ve minimal invaziv bir girişim yöntemi olması bu tekniğin en önemli avantajlarıdır. Ek olarak, tükürük örneğinin kan örneğine göre daha hızlı alınabilmesi yanında, ağrısız bir işlem olması da, kendi kendine de örnek alınabilmesine olanak sağlar.

Hepatit viruslarına karşı oluşan antikörleri tükürükten saptamak tatmin edici bir alternatif yöntem olup, salgın takibi gibi durumlarda ve hastalığa karşı toplu taramalarda sağlık çalışanlarının riskini azaltması açısından da oldukça güvenli bir tekniktir. İğne batması sonucu sağlık personeline HCV bulaş riski ortalama %0-10 olarak kabul edilmektedir. İğnenin tipi ile bulaş arasında da yakın bir ilişki vardır. İçi delik ve kanüllü iğnelerde kan kalma ihtimali daha fazla olduğundan bulaş riski de daha yüksektir. Tükürük örneğinin kan örneği yerine kullanılması bu riski ortadan kaldıracaktır.

Tükürükteki HCV'ye spesifik IgG ve IgM düzeylerinin serumdaki IgG ve IgM düzeylerinden düşük olduğu bilinmektedir.¹¹⁶

Tükürükte hepatit C virusuna karşı antikörlerin varlığının araştırıldığı çalışmalarda bu amaçla kullanılan ticari kitler arasında, Salivette (Sarsted Ltd., Leicester, UK), Orapette (Trinity Biotech, Dublin, Ireland), Omni-SAL (Saliva Diagnostic Systems, Inc., Vancouver, WA), Orasure (Epitope Technologies, Inc., Bethlehem, PA), ve Oracol (Malvern Medical Development, UK) bulunmaktadır. Bu kitler, tükürükte anti-HIV-1 taraması için FDA tarafından onay almıştır. Ancak anti-HCV için onayları bulunmamasıyla birlikte bu kitlerin hepatit C virus antikörlerini saptamada da duyarlılık ve seçiciliklerinin yüksek olduğu savunulmaktadır. Yine de, tükürük IgG konsantrasyonu hangi teknik ile tükürük alınırsa alınsın serumdan düşük seviyededir. Bu nedenle, serum için geliştirilmiş serolojik testlerde modifikasyon yapmak gerekmektedir. Bu modifikasyonlar arasında örnek miktarının artırılması, dilüsyonun azaltılması, örnek ve konjugat inkübasyon sürelerinin uzatılması ve cut-off değerinin optimize edilmesi sayılabilir.

Çalışmamızda serum anti-HCV kitini tükürük için uyarlamada diğer çalışmalardaki öneriler doğrultusunda değişiklikler gerçekleştirdik. Ayrıca tükürük alma işlemi için yukarıda belirtilen hazır ticari kitler yerine, hastaların ağız bakım işleminde kullanılan sünger çubukları kullandık. (Bu çubuklar ilk kez böyle bir çalışmada kullanılmıştır.) Çalışmamızın sonucunda serum anti-HCV düzeyi altın standart olarak kabul edildiğinde tükürük anti-HCV testinin duyarlılığı %86,7, seçiciliği %86,7 olarak saptanmıştır.

Tükürükteki IgG miktarı seruma göre oldukça düşüktür (yaklaşık 1/800). Serumda düşük anti-HCV titreleri ve HCV-RNA negatifliği söz konusu olduğunda tükürük anti-HCV düzeyi saptanabilir seviyelerin altına inebilmektedir. Alter ve arkadaşları bu durumu kendi çalışmalarında göstermişlerdir.¹²⁵ Bunun dışında, HIV ile koinfeksiyon da yalancı negatiflik ile sonuçlanabilmektedir. Bizim çalışmamızda serum anti-HCV düzeyleri pozitif olup, tükürük anti-HCV düzeyi negatif olan 10 hasta bulunmaktadır. Bu hastaların sekizinde HCV-RNA düzeyi negatif olup diğer iki hastada ise bu durumu açıklayacak herhangi bir özellik saptanmadı.

İspanya'dan González ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 45 anti-HCV(+) ve 45 anti-HCV(-) kişinin tükürük örnekleri Orasure örnek alma seti ile alınmış ve Ortho HCV3.0 SAVE ELISA kiti ile örnekler çalışılmıştır. Bu çalışmada duyarlılık %86,67, seçicilik ise %100 olarak bulunmuştur. PPV %100 ve NPV ise %88 olarak hesaplanmıştır.¹¹⁶

Judd ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise ticari tükürük alma kitleri olan Orasure ve Salivette kitleri Ortho HCV 3.0 SAVe ELISA kullanılarak karşılaştırılmıştır. Çalışmaya 253 anti-HCV(+) ve 394 anti-HCV(-) gönüllü katılmıştır. Orasure kiti ile %92 duyarlılık ve %99 seçicilik sağlanırken, Salivette kiti ile %83 duyarlılık ve %93 seçicilik sağladıklarını bildirmişlerdir. Sonuç olarak Orasure tükürük toplama setinin epidemiyolojik çalışmalar için çok uygun bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.¹¹⁷

İsrail’de 1998 yılında yapılan bir çalışmada, 141 karaciğer hastası taranmıştır. Yetmiş üç hastanın anti-HCV(+) saptandığı çalışmada tükürük ve idrarda anti-HCV pozitifliği araştırılmıştır. Gönüllülerden steril bir kaba tükürmeleri istenmiş ve alınan örnekler HCV EIA 2.0 ile çalışılmış, tükürük antikor duyarlılığı % 90, seçiciliği %100 saptanırken, idrar duyarlılığı düşük, yalancı pozitifliği yüksek bulunmuştur. Sonuçta, tükürük anti-HCV testinin tarama testi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.¹¹⁹

Fransa’da yapılan bdiğer bir çalışmada ise Bello ve arkadaşları 161 serum anti-HCV(+) ve 109 serum anti-HCV(-) kişinin tükürüğünde anti-HCV antikorlarını araştırmışlardır. Tükürük örnekleri Salivette kiti ile alınmıştır. Serumda anti-HCV antikorları Ortho HCV 3.0 ELISA ve Monolisa anti-HCV Plus ile değerlendirilmiştir. Duyarlılık %94,4, seçicilik ise %99,1 olarak bildirilmiştir. HCV enfeksiyonuna HIV enfeksiyonunun eşlik etmesinin sonuçlara etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.¹²⁰

Hollanda’da 2001 yılında yapılan bir çalışmada ise ticari tükürük alma kitleri olan Salivette ve Omni-Sal kitleri ile alınan tükürük numuneleri Ortho HCV 3.0 ELISA ve Monolisa anti-HCV Plus EIA testleri ile çalışılarak karşılaştırılmıştır. Örnek kitleri ve ELISA kitleri ile çeşitli eşleştirmeler yapılmış ve bu eşleştirmelerin karşılaştırılması sonucunda anlamlı fark bulunamamıştır. Yazarlar, tükürükte anti-HCV antikor taramanın epidemiyolojik çalışmalarda yararlı bir teknik olduğunu belirtmişlerdir.¹²¹

Lucidarme ve arkadaşları Salivette ticari kiti ile 108 tükürük örneğini alıp, serum örneklerini AxSYM HCV 3.0 ile çalışmışlardır. Tükürük örnekleri iki ayrı laboratuvar da değerlendirilmiştir. Testin duyarlılığı birinci laboratuvar da %71, ikinci laboratuvar da % 78, seçiciliği ise sırasıyla %97 ve %98,5 olarak belirtilmiştir.¹²²

De Cock ve arkadaşlarının araştırmasında ise Oracol adlı tükürük toplama kiti ile 73 anti-HCV(-) ve 73 anti-HCV(+) kişiden örnek toplanıp Ortho HCV 3.0 ELISA kiti ile çalışılmıştır. Bu çalışmada ise duyarlılık %83,6, seçicilik ise %100 olarak bulunmuştur.¹²³

Amado ve arkadaşlarının 110 olguda yaptıkları bir çalışmada Orasure ticari tükürük toplama kiti ile alınan örneklerin UBI HCV EIA 4.0 (United Biomeical Inc., US) ile değerlendirilmesi sonucunda duyarlılık %75, seçicilik ise %97,75 olarak bildirilmiştir. Bu çalışma da tükürük testinin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabileceğini göstermektedir.¹²⁴

Çalışmamızda anti-HCV(+) olan 75 hastanın HCV-RNA değerleri incelendiğinde 38(%50,7) hastada serum HCV-RNA pozitif olarak bulundu. Otuzsekiz HCV-RNA(+) hastanın 36(%94,7)'sında tükürük anti-HCV(+) olarak saptanırken, 2(%5,3) hastada tükürük anti-HCV(-) bulundu. Serum HCV-RNA değeri negatif olan 37(%49,3) hastanın 29(%78,4)'unda da tükürük anti-HCV değeri pozitif olarak bulundu. Sekiz hastada ise tükürük anti-HCV(-)'ti. Çalışmamızda HCV-RNA altın standart olarak kabul edildiğinde tükürük anti-HCV testinin duyarlılığı %94,7, seçiciliği %21,6 olarak saptandı. Sonuçlarımız yapılan çalışmalarla uyumlu olup, duyarlılık yüzdeleri diğer araştırmalara benzer bulunmuştur.

Van Doornum ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 102 anti-HCV(+) hastanın 67 (%75)'de serum HCV-RNA(+) saptanmıştır. Bu hastaların tükürük anti-HCV pozitiflikleri ile HCV-RNA pozitiflikleri arasında korelasyon saptandığı bildirilmiştir.¹¹⁸

Lucidarme ve arkadaşlarının iki farklı laboratuvarında çalıştıkları tükürük ve kan örneklerinin sonucunda ise serumda HCV-RNA pozitifliği altın standart olarak kabul edildiğinde duyarlılık birinci laboratuvarında %90 iken ikinci laboratuvarında %93 olarak bulunmuştur.¹²²

Yaari ve arkadaşlarının 37 hemodiyaliz hastasında immunoComb II test kiti ile hem tükürük hem de serum anti-HCV araştırdıkları çalışmada, serum HCV-RNA pozitifliği saptanan olgularda testin %100 duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.¹²⁵

De Cock ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında serum HCV-RNA düzeyi ile tükürük anti-HCV düzeyleri arasındaki bağlantı araştırılmış ve Oracol kiti alınan tükürük örnekleri Ortho HCV 3.0 ELISA kiti ile çalışılmıştır. Sonuçta, serum HCV-RNA varlığı ile tükürük anti-HCV varlığı arasında bir miktar anlamlı korelasyon saptandığı bildirilmiştir.¹²⁶

Çalışmamızda, serum anti-HCV düzeyi altın standart olarak kabul edildiğinde tükürük anti-HCV testinin duyarlılığı %86,7, seçiciliği %86,7 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda duyarlılık ve seçicilik yüzdeleri, diğer çalışmalarla kıyaslandığında bir miktar düşük olarak bulunmuştur. Söz konusu durumun bu çalışmada farklı bir tükürük alma yönteminin kullanılmasıyla bağlantılı olduğu düşünülebilir. Ancak bu hipotezi doğrulamak için diğer ticari tükürük alma kitleri ile kullandığımız yöntemin karşılaştırılması uygun olacaktır.

Serum anti-HCV(-) olan on hastanın tükürük anti-HCV değeri pozitif saptanmış olup bu grubun serum HCV-RNA düzeyleri ile değerlendirme yapılması gerekmektedir. Ancak kaynak yetersizliği nedeniyle bu veriler elde edilememiştir. Bu durum, çalışmamızın eksik bir noktası olup yeterli kaynak sağlandığında hedeflenen grubun serum HCV-RNA düzeylerinin Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda çalışılması planlanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, hepatit C virusu, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Posttransfüzyonel bulaş azalmış da olsa, damar içi uyuşturucu kullanımına bağlı bulaş uzun yıllar sorun olmaya devam edecek gibi görünmektedir.

Toplu taramalarda, kan alınmasının güç ve invaziv bir girişim olması, pahalı ekipman ve eğitimli personele ihtiyaç duyulması ve zaman alıcı bir işlem olması nedeniyle bu tür sağlık çalışmalarında sıkıntı oluşturmaktadır.

Tersine, örnek olarak tükürük alınmasının kolay olması, invaziv olmayan bir girişim seçeneği oluşturmaya ek olarak kişilerin kendi kendine uygulayabilecekleri bir teknik olması, bu yöntemi çekici kılmaktadır.

Bunun yanında tükürük örneğinin kullanılması HCV bulaş riskini de minimale indirecek bir yöntemdir. Bu şekilde sağlık çalışanlara bulaş riskinin azalması, bu tür taramalarda sağlık personelinin çalışmaya teşvik edecektir. Ayrıca, daha ucuz bir yöntem olup, zaman kaybını da en aza indirecektir. Çocuk hastalar için de ağrısız bir yöntem olarak, örnek alımı sırasında daha rahat kooperasyon kurulması sağlanabilecektir.

Bizim çalışmamızda duyarlılık ve seçicilik diğer çalışmalara göre daha düşük sonuçlanmış olmakla birlikte epidemiyolojik çalışmalar için uygun duyarlılığa sahiptir. Çalışmamızdaki hasta sayısının artırılarak, yeni araştırmalar yapılması, diğer tükürük alma kitleri ile uyguladığımız tükürük alma yönteminin karşılaştırılması bu çalışmanın sonucundaki yeni hedefler olarak belirlenmiştir. Ayrıca, ülkemizde benzer bir çalışma bulunmaması açısından yaptığımız araştırmanın farklı bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Thomas DL, Ray SC, Lemon SM.** *Hepatitis C.* In: *Mandell GL, Bennett JE, Dolin R* (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases.* **6th ed.** Pennsylvania:Churchill Livingstone, **2005:1950-1972.**
2. **Bukh J, Miller RH, Purcell RH.** *Biology and genetic heterogeneity of hepatitis C virus.* *Clin Exp Rheumatol.***1995;Suppl13:S3-7.**
3. **Simmonds P.** *Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus – 15 years on.* **J Gen Virol.** **2004;85:3173-3188.**
4. **Simmonds P, Bukh J, Combet C, ve ark.** *Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes.* **Hepatology.** **2005; 42:962-973.**
5. **Simmonds P.** *The origin and evolution of hepatitis viruses in humans.* **J Gen Virol.** **2001;82:693-712**
6. **Ndjomou J, Pybus OG, Matz B.** *Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates indicates a unique pattern of endemic infection in Cameroon.* **J Gen Virol.** **2003;84:2333-2341.**
7. **Yu X, Qiao M, Atanasov I, ve ark.** *Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles.* **Virology** **2007; 367:126-134.**
8. **Choo QL, Richman KH,i Han HJ, ve ark.** *Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus.* **Proc Natl Acad Sci USA.** **1991;88:2451-2455.**
9. **Tanaka T, Kato N, Cho MJ, ve ark.** *Structure of the 3' terminus of the hepatitis C virus genome.* **J Virol.** **1996;70(5): 3307–3312.**
10. **McLauchlan J, Lemberg MK, Hope G, ve ark.** *Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets.* **EMBO J.** **2002;21(15):3980-8.**
11. **Wölk B, Sansonno D, Kräusslich HG, ve ark.** *Subcellular localization, stability, and transcleavage competence of the hepatitis C virus NS3-NS4A complex expressed in tetracycline- regulated cell lines.* **J Virol.** **2000;74:2293-2304.**

12. **Tomei L, Failla C, Vitale RL, ve ark.** *A central hydrophobic domain of the hepatitis C virus NS4A protein is necessary and sufficient for the activation of the NS3 protease.* **J Gen Virol.** 1996;77:1065-1070.
13. **Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, ve ark.** *Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection.* **N Engl J Med.** 1996;334:77-81.
14. **Lohmann V, Roos A, Körner F, ve ark.** *Biochemical and structural analysis of the NS5B RNA-dependent RNA polymerase of the hepatitis C virus.* **J Viral Hepat.** 2000;7:167-174.
15. **Kato T, Furusaka A, Miyamoto M, ve ark.** *Sequence analysis of hepatitis C virus isolated from a fulminant hepatitis patient.* **J Med Virol.** 2001;64:334-339.
16. **Farci P, Shimoda A, Wong D, ve ark.** *Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein.* **Proc Natl Acad Sci USA.** 1996;93:15394-15399.
17. **Kato N, Sekiya H, Ootsuyama Y, ve ark.** *Humoral immune response to hypervariable region 1 of the putative envelope glycoprotein (gp70) of hepatitis C virus.* **J. Virol.** 1993;67:3923-3930.
18. **Ray SC., Wang YM., Laeyendecker O, ve ark.** *Acute Hepatitis C virus structural gene sequences as predictors of persistent viremia: Hypervariable region 1 as a decoy.* **J Virol.** 1999;73:2938-2946.
19. **Forns X, Thimme R, Govindarajan S, ve ark.** *Hepatitis C virus lacking the hypervariable region 1 of the second envelope protein is infectious and causes acute resolving or persistent infection in chimpanzees.* **Proc Natl Acad Sci USA.** 2000;97:13318-13323.
20. **Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, ve ark.** *Binding of hepatitis C virus to CD81.* **Science.** 1998;282:938-941.
21. **Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, ve ark.** *Complete replication of hepatitis C virus in cell culture.* **Science.** 2005;309:623-626.

22. **Bartosch B, Vitelli A, Granier C, ve ark.** *Cell entry of hepatitis C virus requires a set of coreceptors that include CD81 and SR-B1 scavenger receptor.* **J Biol Chem.** 2003b;278:41624-41630.
23. **Nahmias Y, Casali M, Barbe L, ve ark.** *Liver endothelial cells promote LDL-R expression and the uptake of HCV-like particles in primary rat and human hepatocytes.* **Hepatology.** 2006;43:257-265.
24. **Furuse M, Fujita K, Hiiragi T, ve ark.** *Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin.* **J Cell Biol.** 1998;141:1539-1550.
25. **Egger D, Wölk , Gosert R, ve ark.** *Expression of hepatitis C virus proteins induce distinct membrane alterations including candidate viral replication complex.* **J Virol.** 2002;76:5974-5984.
26. **Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, ve ark.** *Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion.* **J Virol.** 2008;2:2120-2129.
27. **Barba G, Harper F, Harada T, ve ark.** **Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets.** **Proc Natl Acad Sci USA.** 1997;94(4):1200-5.
28. *Hepatitis C: global prevalence.* **Wkly Epidemiol Rec.** 1997;72:341-344.
29. **Alter MJ, Kruzson-Moran D, Nainan OV, ve ark.** *The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994.* **N Engl J Med.** 1999;341:556-562.
30. **Frank C, Mohamed MK, Strickland GT, ve ark.** *The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt.* **The Lancet.** 2000;355(9207):887-91.
31. **Barut HŞ, Günal Ö.** *Dünyada ve ülkemizde hepatit C epidemiyolojisi.* **Klimik Derg.** 2009;22(2):38-43.
32. **Sünbül M.** *HCV Enfeksiyonunun Epidemiyolojisi ve Korunma.* **Tabak F, Balık İ, Tekeli E.(editörler) Viral Hepatit 2007. Viral Hepatitle Savaşım Derneği:**208-219.

33. **Çelik İ, Akbulut A.** *Kronik Hepatit C İnfeksiyonu.* **Köksal İ, Leblebiciğolu H** (Editörler). **Kronik Hepatitlerin tedavisinde Güncel Yaklaşımlar.** Bilimsel Tıp Yayınevi. 2007;121-136.
34. **Kökoğlu ÖF, Geyik MF, Uçmak H, ve ark.** *Diyarbakır İlinde Kan Donörlerinde HbsAg ve Anti-HCV Prevalansı.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(1):56-59.
35. **Gülcan EM, Sağlık N, Şiraneci R, ve ark.** *Hastaneye Başvuran ve Risk Faktörü Olmayan Asemptomatik Adolesanlarda Anti-HCV Pozitifliği ve Erişkin Kan Donörleri ile Karşılaştırılması.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(1):51-55.
36. **Kuruüzüm Z, Özgenç O, Urbarlı A.** *The seroepidemiology of chronic viral hepatitis and chirrrosis in Aegean Region.* **FEMS Symposium on Recent Advances in the Diagnosis of Viral Diseases, Abstracts, 42, İstanbul, 1995.**
37. **Özgenç O, Urbarlı A, Erdenizmenli M , ve ark.** *Kan vericilerinde bazı serolojik viral göstergelerin araştırılması.* **İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection).** 1995;9(4):415-417.
38. **Kurt H, Battal İ, Memikoğlu O, ve ark.** *Ankara Bölgesinde Sağlıklı Bireylerde HAV, HBV, HCV Seropozitifliğinin Cinsiyete Göre Dağılımı.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(2):88-96.
39. **Kaçmaz B.** *Ankara İlinde Hepatit B ve Hepatit C İnfeksiyonu Seroprevalansı.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(2):97-101.
40. **Özden M, Demirdağ K, Kalkan A.** *Hastanemizde Üç Yıllık HBV ve HCV Markerlarının Değerlendirilmesi.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(2):116-118.
41. **Kölgeliler S, Ertek M, Özlük Ö, ve ark.** *Erzurum ve Çevresinde Hepatit C Seroprevalansı.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(3):166-170.
42. **Kaygusuz S, Kılıç D, Ayaşlıoğlu E, ve ark.** *Kırıkkale'de Yaşa ve Cinsiyete Göre HAV, HBV ve HCV Seropozitiflik Sonuçları.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(3):160-165.
43. **Turunç T, Sezgin N, Uncu H, ve ark.** *Kan Donörlerinde Hepatit B ve Hepatit C Seroprevalansı.* **Viral Hepatit Derg.** 2003;8(3):171-173.

44. Şencan İ, Şahin İ, Kaya D, ve ark. *Yeni Kurulan Bir Tıp Fakültesi Hastanesinde Sağlık Çalışanlarının Hepatit B ve Hepatit C Seroprevalansı. Viral Hepatit Derg.* 2003;8(1):47-50.
45. Köse Ş, Sarıca A, Çağlan-Çevik F, ve ark. *Yüksek Risk Grubunda Olan Sağlık Çalışanlarında Viral Hepatit A, B, C Seroprevalansı. Viral Hepatit Derg.* 2003;8(3):152-154.
46. Kuruüzüm Z, Yapar N, Avkan-Oğuz V, ve ark. *Risk of infection in health care workers following occupational exposure to a noninfectious or unknown source. Americam Journal of Infection Control.* 2008;36(10):e27-31.
47. CDC, *Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus(HCV) infection and HCV-related chronic disease. MMWR* 1998;47(RR-19).
48. Francois M, Dubois F, Brand D, ve ark. *Prevalence and significance of hepatitis C virus (HCV) viremia in HCV antibody-positive subjects from various populations. J Clin Microbiol.* 1993;31(5):1189.
49. Pomper GJ, Wu Y, Snyder EL. *Risks of transfusion-transmitted infections: 2003. Curr Opin Hematol.* 2003;10(6):412.
50. Quer J, Esteban J. *Epidemiology. IN: Thomas HC, Lemon S, Zuckerman AJ (eds). Viral Hepatitis. Massachusetts, USA. Third Edition. Blackwell Publishing.* 2005:407-425.
51. Wreghitt TG. *Blood-borne virus infections in dialysis units:a review. Rev Med Virol.* 1999;9:101-109.
52. Özgenç O, Urbarlı A, Büyüksu T, ve ark. *The investigation of hepatitis markers in hemodialysis patients. Medical Journal of Ege University.* 1995;5(3-4):81-84.
53. Kuruüzüm Z, İnci K, Havuk A, ve ark. *Hemodiyaliz olgularında HBV, HCV ve HDV seroprevalansı. VIII. Ulusal Viral Hepatit Kongresi, 2-5/Eylül/2006, Pine Beach Otel, Antalya.*
54. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, ve ark. *Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. N Engl J Med.* 1991;325(7):454-460.

55. **Alter MJ.** *Epidemiology of hepatitis C.* **Hepatology.** 1997;26:62S-65S.
56. **Garfein RS, Vlahov D, Galai N, ve ark.** *Viral infections in short-term injection drug users: The prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T –lymphotropic viruses.* **Am J Public Health.** 1996;86(5):655-661.
57. **Thomas DL, Vlahov D, Solomon L ve ark.** *Correlates of hepatitis C virus infections among injection drug users.* **Medicine (Baltimore).** 1995;74(4):212-220.
58. **Bronowicki JP, Veanrd V, Botté C ve ark.** *Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy.* **N Engl J Med.** 1997;337(4):237-240.
59. **Resti M, Azzari C, Mannelli F et al.** *Mother to child transmission of hepatitis C virus: prospective study of risk factors and timing of infection in children born to women seronegative for HIV-1.* **Tuscany Study Group on Hepatitis C Virus Infection. BMJ.** 1998;317(7156):437-441.
60. **Hardikar W.** *Hepatitis C in childhood.* **J Gastroenterol Hepatol.** 2002;17:476-481.
61. **Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, ve ark.** *Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants.* **The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. N Engl J Med.** 1994;330:744-750.
62. **Bassett SE, Guerra B, Brasky K, ve ark.** *Protective immune response to hepatitis C virus in chimpanzees rechallenged following clearance of primary infection.* **Hepatology.** 2001;33:1479-1487.
63. **Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, ve ark.** *Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection.* **Hepatology.** 1999;29(3):908-914.
64. **Kenny-Walsh E.** *Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globuline.* **Irish Hepatology Research Group. N Engl J Med.** 1999;340:1228-1233.
65. **Féray C, Gigou M, Samuel D, ve ark.** *Incidence of hepatitis C in patients receiving different preparations of hepatitis B immunoglobulins after liver transplantation.* **Ann Intern Med.** 1998;128(10):810-816.

66. **Thimme R, Oldach D, Chang KM, ve ark.** *Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection.* **J Exp Med.** 2001;194(10):1395-1406.
67. **Gruener NH, Lechner F, Jung MC,ve ark.** *Sustained dysfunction of antiviral CD8+ T lymphocytes after infection with hepatitis C virus.* **J Virol.** 2001;75(12):5550-5558.
68. **Grakoui A, Shoukry NH, Woolard DJ, ve ark.** *HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help.* **Science.** 2003;302(5645):659-662.
69. **Deng LP, Gui XE, Zhang YX, ve ark.** *Impact of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection:A meta-analysis.* **World J Gastroenterol.** 2009;15(8):996-1003.
70. **El-Awady MK, Youssef SS, Omran MH, ve ark.** *Soluble egg antigen of Schistosoma haematobium induces HCV replication in peripheral mononuclear cells from patients with chronic HCV infection.* **BMC Infect Dis.** 2006;6:91-97.
71. **Koretz RL; Abbey H, Coleman E, ve ark.** *Non-A, Non-B post-transfusion hepatitis.* **Ann Intern Med.** 1993;119(2):110-115.
72. **Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, ve ark.** *The natural history of hepatitis C virus infection:host, viral and enviromental factors.* **JAMA.** 2000;284(4):450-456.
73. **Rai R, Astemborski J, Anannia F, ve ark.** *Severity and correlates of liver disease in hepatitis C virus infected injection drug users.* **Hepatology.** 2002;35(5):1247-1255.
74. **Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B, ve ark.** *Hepatitis virus type 1b (II) infection in France and Italy.* **Ann Intern Med.** 1995;122(3): 161-168.
75. **Bellentani S, Pozzato G, Saccoccio G, ve ark.** *Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population:report from the Dionysos study.* **Gut.** 1999;44:874-880.
76. **Kuzushita N, Hayashi N, Moribe T, ve ark.** *Influence of HLA haplotypes on the clinical courses of individuals infected with hepatitis C virus.* **Hepatology.** 1998;27(1):240-244.

77. Asti M, Martinetti M, Zavaglia C, ve ark. *Human leukocyte antigen class II and Class III alleles and severity of hepatitis C virus-related chronic liver disease. Hepatology. 1999;29(4):1272-1279.*
78. Alter HJ, Conry-Canteline C, Melpolder J, ve ark. *Hepatitis C in asymptomatic blood donors. Hepatology. 1997;26(S3):29S-33S.*
79. Zekry A, Patel K, McHutchison J. *Treatment of acute hepatitis C infection: more pieces of the puzzle? J Hepatol. 2005;42:293-296.*
80. Alberti A, Boccatto S, Vario A, ve ark. *Therapy of acute hepatitis C. Hepatology. 2002; 36S1: S195-S200.*
81. Alter MJ, Kruzson-Moran D, Nainan OV, ve ark. *The prevalence of hepatitis C virus infection in The United States, 1988 through 1994. N Engl J Med. 1999;341(8):556-562.*
82. Kim WR, Gross JBJ, Poterucha JJ, ve ark. *Outcome of hospital care of liver disease associated with hepatitis C in the United States. Hepatology. 2001;33(1):201-206.*
83. Dienstag JL. *The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. Hepatology. 2002;36(S1):S152-S160.*
84. *National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement :management of hepatitis C :2002-June 10-12. Hepatology. 2002;36(S1):S3-S20.*
85. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Cazals-Hatem D, ve ark. *Prospective study on anti-hepatitis C virus-positive patients with persistently normal serum alanine transaminase with or without detectable serum hepatitis C virus RNA. Hepatology. 2001;34(5):1000-1005.*
86. Tong MJ; El-Farra NS; Reikes AR, ve ark. *Clinical outcomes after transfusion – associated hepatitis C. N Engl J Med. 1995;332:1463-1466.*
87. Seeff LB. *Natural history of hepatitis C. Hepatology. 2002;36(S1):S35-S46.*
88. Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE, ve ark. *Hepatitis C and steatosis :areappraisal. J Viral Hepat. 2006;13(2):73-80.*

89. Vento S, Garofano T, Renzini C, ve ark. *Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C.* **N Engl J Med.** 1998;338(5):286-290.
90. Serfaty L, Aumaitre H, Chazouilleres O, ve ark. *Determinants of outcome of compensated hepatitis C virue-related cirrhosis.* **Hepatology.** 1998;27(5):1435-1440.
91. El-Serag HB. *Hepatocellular carcinoma and hepatitis C in the United States.* **Hepatology.** 2002;36(S1):S74-S83.
92. Ray RB; Lagging LM, Meyer K, ve ark. *Hepatitis C virus core protein cooperates with ras and transforms primary rat embryo fibroblasts to tumorigenic phenotype.* **J Virol.** 1996;70(7):4438-4443.
93. Hoofnagle JH. *Course and outcome of hepatitis C.* **Hepatology.** 2002;36(S1):S21-S29.
94. Buskila D. *Hepatitis C-associated rheumatic disorders.* **Rheum Dis Clin N Am.** 2009;35(1):111-123.
95. Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, ve ark. *HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV syndrome.* **Dig Liver Dis.** 2007;39(S1):S13-S21.
96. Abdel-Hamid M, El-Daly M, El-Kafrawy S, ve ark. *Comparison of second-and third-generation enzyme immuassays for detecting antibodies to hepatitis C virus.* **J Clin Microbiol.** 2002;40(5):1656-1659.
97. Clemens JM, Taskar S, Chau K, ve ark. *IgM antibody response in acute hepatitis C viral infection.* **Blood.** 1992;74(1):169-172
98. Kurtz JB, Boxall E, Qusir N, ve ark. *The diagnostic significance of an assay for 'total' hepatitis C core antigen.* **J Virol Methods.** 2001;96(2):127-132.
99. Icardi G, Ansaldi F, Bruzzone BM, ve ark. *Novel Approach to reduce the hepatitis C virus (HCV) window period:clinical evaluation of a new enzyme-linked immunosorbent assay for HCV core antigen.* **J Clin Microbiol.** 2001;39(9):3110-3114.
100. Ansaldi F, Icardi G. *Simultaneous detection of anti HCV antibody and core antigen.* **Methods Mol Biol.** 2009;510:15-23.

101. **Gretch DR, Wilson JJ; Carithers RLJ, ve ark.** *Detection of hepatitis C virus RNA: Comparison of one-stage polymerase chain reaction (PCR) with nested-set PCR.* **J Clin Microbiol.** 1993;31(2):289-291.
102. **Albadalejo J, Alonso R, Antinozzi R, ve ark.** *Multicenter evaluation of the COBAS AMPLICOR HCV assay, an integrated PCR system for rapid detection of hepatitis C virus RNA in the diagnostic laboratory.* **J Clin Microbiol.** 1998;36(4):862-865.
103. **Ross RS, Viazov SO, Hoffmann S, ve ark.** *Performance characteristics of a transcription-mediated nucleic acid amplification assay for qualitative detection of hepatitis C virus RNA.* **J Clin Lab Anal.** 2001;15(6):308-313.
104. **Lunel F, Cresta P, Vitour D, ve ark.** *Comperative evaluation of hepatitis C virus RNA quantitation by branched DNA, NASBA, and monitor assays.* **Hepatology.** 1999;29(2):528-535.
105. **Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, ve ark.** *Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa 2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C:a randomised trial.* **Lancet.** 2001;358(9286):958-965.
106. **Fried MW; Shiffman ML, Reddy KR ve ark.** *Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection.* **N Engl J Med.** 2002;347:975-982.
107. **Hadsiyannis SJ, Sette HJ, Morgan TR ve ark.** *Peginterferon alfa-2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C.* **Ann Intern Med.** 2004;140(5):346-355.
108. **Jacobson IM, Brown RSJ, Freilich B, ve ark.** *Peginterferon alfa-2b and weight-based or flat-dose ribavirin in chronic hepatitis C patients:A randomized trial.* **Hepatology.** 2007;46(4):971-981.
109. **Khuroo MS, Khuroo NS, Dahab ST.** *Meta-analysis: a randomized trial of peginterferon plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis C genotype 4.* **Aliment Pharmacol Ther.** 2004;20(9);931-938.
110. **Jacobson IM, Gonzalez SA, Ahmed F, ve ark.** *A randomized trial of pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C.* **Am J Gastroenterol.** 2005;100(11):2453-3462.

111. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, ve ark. *Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C: An Update.* **Hepatology.** 2008;49(4):1335-1374.
112. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, ve ark. *Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients.* **N Engl J Med.** 2004;351(5):438-450.
113. Chung RT, Andersen J, Volberding P, ve ark. *Peginterferon alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons.* **N Engl J Med.** 2004;351(5):451-459.
114. Hezode C, Forestier N, Dusheiko G, ve ark. *Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection.* **N Engl J Med.** 2009;360(18):1839-1850.
115. Esen Ş, Yılmaz H. *Kronik Hepatit C'de yeni tedavi yaklaşımları.* **Viral Hepatit 2009.** Editörler: Tabak F, Balık İ. **Viral Hepatit Savaşım Derneği.** 2009:153-161.
116. González V, Martró E, Folch A, ve ark. *Detection of hepatitis C virus antibodies in oral fluid specimens for prevalence studies.* **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 2008;27:121-126.
117. Judd A, Parry J, Hickman M, ve ark. *Evaluation of a modified commercial assay in detecting antibody to hepatitis C virus in oral fluids and dried blood spots.* **J Med Virol.** 2003;71:49-55.
118. Aksakoğlu G. *Sağlıkta Araştırma Teknikleri ve Analiz Yöntemleri.* 2001, İzmir: DEÜ Rektörlük Matbaası.
119. Elsana S, Sikuler E, Yaari A. ve ark. *HCV antibodies in saliva and urine.* **J Med Virol.** 1998;55:24-27.
120. Bello PY, Pasquier C, Gourney P ve arkadaşları. *Assessment of a hepatitis C virus antibody assay in saliva for epidemiological studies.* **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 1998;17:570-572.
121. Van Doornum GJJ, Lodder A, Buimer M. ve ark. *Evaluation of hepatitis C antibody testing in saliva specimens collected by two different systems in comparison with HCV antibody and HCV-RNA in serum.* **J Med Virol.** 2001;64:13-20.

122. **Lucidarme D, Decostere A, Delamare C. ve ark.** *An-inter laboratory study of anti-HCV antibody detection in saliva samples.* **Gastroenterol Clin Biol.** 2003;27:159-162.
123. **De Cock L, Hutse V, Verhaegen E ve ark.** *Detection of HCV antibodies in oral fluid.* **J Viro Met.** 2004;122:179-183.
124. **Amado LA, Villar LM, De Paula VS ve ark.** *Detection of hepatitis A, B, and C virus-specific antibodies using oral fluid for epidemiological studies.* **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 2006;101(2):149-155.
125. **Yaari A, Tobvin D, Zlotnick M. ve ark.** *Detection of HCV salivary antibodies by a simple and rapid test.* **J Viro Met.** 2006;133:1-5.
126. **De Cock L, Hutse V, Vranckx R.** *Correlation between detection of antibodies against hepatitis C virus in oral fluid and hepatitis C RNA in serum.* **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 2005;24:566-568.

Ek-1 Gönüllü Bilgilendirme Formu

Tükürükten Ayrıştırılan HCV Antikorları İle Serumdaki HCV-RNA Arasındaki Korelasyonun Belirlenmesi

Hepatit karaciğerin enflamasyonu anlamına gelir. Hepatit C dahil olmak üzere en sık rastlanan tiplerine bir virüs neden olur, ancak çok fazla alkol içilmesi de hepatite yol açabilir.

Hepatit C, 1989 yılına dek keşfedilmemiş bir virüsten kaynaklanır. Bu virüs kan teması yoluyla yayılır, ancak nadiren cinsel yolla da bulaşır. Hepatit C yaygın bir virüstdür ve Dünya Sağlık Örgütü tüm dünyada 170 milyon kişinin bu virüs ile enfekte olduğunu hesaplamıştır.

Hepatit C 'ye kişiler genelde şu yollarla yakalanırlar:

- 1991 yılından önce virüs ile enfekte kan veya kan ürünlerinin kullanımı,
- Enfekte kan ile temas edilen herhangi bir durum (Örneğin; traş makinesi, makas, diş fırçasının ortaklaşa kullanımı),
- Yeterince iyi sterilize edilmemiş ekipmanın kullanıldığı tıbbi veya tıbbi olmayan durumlar (İlaç/uyuşturucu enjekte ederken enfekte iğnelerin ortak kullanılması, iğne batma kazası, diş sağaltımı, sterilize edilmemiş dövme, vücut deldirme ekipmanı),
- Kanamaya yol açan yüksek riskli cinsel aktiviteler,
- Kişisel bakım gereçlerinin ortak kullanılması,
- Anneden bebeğe bulaşma (nadir),
- Birçok insanda bulaşma yolu bilinmemektedir.

Başlangıçtaki enfeksiyondan sonraki kısa dönem (sıklıkla 6 ay) hastalığın akut fazı olarak adlandırılır. Bazı kişiler bu dönemde (yaklaşık %15-30) virüsü kendi başlarına, sağaltımsız yenebilmektedirler.

Ne yazık ki, çoğu kişi virüsü akut fazda uzaklaştırılmaz ve hastalık kronik faza ilerler. Bu andan sonra virüsü sağaltımsız uzaklaştırma olasılığı çok düşüktür.

Kanda antikor saptanması şu anda hastalığın olduğu anlamına gelmez, hastalık ile karşılaşıldığını gösterir. Kanda yapılan bir PCR testi ile virüse hala sahip olup olunmadığı gösterilir.

HCV-RNA pozitifliğinin tespit edilmesi, HCV enfeksiyonunu göstermede altın standart yöntemdir.

Hepatit C virüsü tüm vücut salgılarında bulunmaktadır. Tükürükte de hepatit C virusu saptanmıştır. Bu çalışmadaki amaç tükürükte hepatit C virusuna karşı bulunan antikorlar ile kandaki hepatit C virus RNA'sı arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Bu amaçla, gönüllülerden bir adet tükürük örneği ile iki düz tüp kan örneği alınacaktır. Bu çalışma sırasında uygulanacak testlerin ve araştırma ile ilgili gerçekleştirecek işlemlerin masrafları size ya da güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

Sizden alınacak olan kan örneği sonrasında sadece iğnenin deriye giriş yerinde hafif bir morluk olabilir, bu durum sizde sağlık açısından hiçbir rahatsızlık meydana getirmeyecektir. Ayrıca tükürük örneği de sünger parçasının ağızınızda bir süre tutulması ile alınacağından sonrasında sizde hiçbir rahatsızlığa neden olmayacaktır. Ancak sizde kan alımı sonrası geliştiğini düşündüğünüz durumda bilgi almak için tarafıma başvurmanız uygun olacaktır.

Gönüllü bu çalışmaya katılmayı red etme ya da araştırma başladıktan sonra devam etmeme hakkına sahiptir. Bu çalışmaya katılmanız veya başladıktan sonra herhangi bir safhasında ayrılmanız daha sonraki tıbbi bakımınızı etkilemeyecektir. Araştırmacı da gönüllünün kendi rızasına bakmadan, olguyu araştırma dışı bırakabilir.

Bu çalışmaya katıldığınız süre içerisinde kayıtlarınızın yanı sıra ilişkili sağlık kayıtlarınız kesinlikle gizli kalacaktır. Bununla birlikte kayıtlarınız kurumun yerel etik kurul komitesine ve Sağlık Bakanlığına açık olacaktır. Hassas olabileceğiniz kişisel bilgileriniz yalnızca araştırma amacıyla toplanacak ve işlenecektir. Çalışma verileri herhangi bir yayın ve raporda kullanılırken bu yayında isminiz kullanılmayacak ve veriler izlenerek size ulaşılmayacaktır.

Katılacağınız çalışma sonuçlarının size direkt bir faydası olmamakla beraber, çalışmaya katılacak yaklaşık yüz elli gönüllü ile beraber ileriki yıllarda yapılacak olan başka çalışmalarla hepatit C için yapılan tarama testlerinde kan örneği alınması yerine sadece tükürük örneği alınması yeterli olabilir. Bu şekilde katılımınız, bilime faydalı bir tarama yöntemi geliştirilmesini sağlayabilir.

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Hastanın;

Adı:

Soyadı:

Tarih:

İmza:

Olur Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş Görevlisinin;

Adı:

Soyadı:

Tarih:

İmza:

Araştırma Yapan Araştırmacının;

Adı: Oya Özlem

Soyadı: EREN KUTSOYLU

Tel: 0232-412-5598/4301

0232-330-2125

0505-5252347

Tarih:

İmza: