

Relationship Between HCV RNA and Serum Alanine Aminotransferase and HCV Genotype Distribution

Hcv RNA ile Serum Alanın Aminotransferaz Düzeyi Arasındaki İlişki ve HCV Genotip Dağılımı

HCV Genotip, ALT / HCV Genotype, ALT

Dilara Yıldırım[1], Mürşit Hasbek[1], Sevil Alkan[2], Naim Nur[3]
[1]Sivas Numune Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, [2]Sivas Numune Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları,
[3]Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD, Sivas, Türkiye

Özet

Amaç: Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonları, yüksek kronikleşme oranı, karaciğer yetmezliği, siroz ve hepatosellüler kanser oluşturması nedeniyle tüm dünyada önem taşıyan bir sağlık sorunudur. Bu çalışmadaki amacımız; enzim immunoassay (ELISA) testi ile anti-HCV pozitifliği tespit edilen hasta grubunda, HCV RNA'nın araştırılmasının yanı sıra, hasta serumunda HCV RNA varlığının, alaninaminotransferaz (ALT) düzeyleri ve HCV genotipleri ile ilişkisinin incelenmesidir. Gereç ve Yöntem: Laboratuvarımıza çeşitli servislerden gelen anti-HCV pozitif hastalarda, HCV RNA düzeyi ve genotip tayini kantitatif real time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) Montania 483 (Anatolia Geneworks HCV, Türkiye) ile üretici firma talimatları doğrultusunda yapılmıştır. Anti-HCV testleri ELISA (Advia Centaur XP, Germany) yöntemiyle çalışılmış, ALT değerleri retrospektif olarak incelenmiştir (Olympus AU2700). Bulgular: Anti HCV'si pozitif, HCV RNA çalışılan toplam 338 hasta serumunun 123'ünde (%36.3) HCV RNA pozitif bulunmuştur. HCV RNA pozitif hastalar içinde ALT referans üst düzey 40 IU/L olarak kabul edildiğinde, bu değerin üzerinde olan 59 (%77.6) hasta tespit edilmiştir. HCV RNA pozitif hastalar ile ALT düzeyi 40'ın üzerinde olan hastalar arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (p<0.001). HCV genotip dağılımına bakıldığında genotip 1b %84 (n=37), genotip 1a %11.4 (n=5), genotip 3 %2.3 (n=1) ve genotip 4 %2.3 (n=1) olarak tespit edilmiştir.Tartışma: Sonuç olarak, anti HCV pozitif olan hastalarda moleküler yöntemlerle HCV RNA bakılmalı, viral yük tespit edilmelidir. Çalışmamızdaki genotip sonuçlarımız bulunduğumuz coğrafya ile uyumludur. HCV enfeksiyonlu hastaların tanı, tedavi ve takiplerinde HCV RNA tespitinin, HCV genotipi ve karaciğer enzim testleri de göz önünde bulundurularak bir bütün olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler

Hepatit C Virus; HCV RNA; HCV Genotip; ALT

Abstract

Aim: Hepatitis C virus (HCV) infections is an important health problem all over the world because of inveteracy ratio and causing hepatic failure, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Our aim in this study is to research HCV RNA in the patients detected anti-HCV positivity with enzyme immunoassay (ELISA) and to analysis the association of HCV RNA in the serum of patients with alanine aminoransferase (ALT) levels and HCV genotypes. Material and Method: In anti-HCV positive patients came from various departments to our laboratory HCV RNA level and genotyping were researched with quantitative real time polimerase chain reaction (PCR) Montania 483 (Anatolia Geneworks HCV, Turkey) and anti-HCV tests were studied with ELISA (Advia Centaur XP, Germany), ALT results were analysed retrospectively (Olympus AU2700). Results: In 123 of Anti HCV positive 338 serum (%37) were detected HCV RNA positivity. In the patients who have ALT level more than 40 (%77.6), HCV RNA is positive. Relationship between HCVRNA positive patients and the patients who have ALT level more than 40 is meaningful. (p<0,05). HCV genotype distribution is detected as genotype 1b %84 (n=37) genotype 1a %11,4 (n=5), genotype 3 %2,3 (n=1), genotype 4 %2.3 (n=1). Discussion: Consequently, in the patients who have hepatic infection with Anti HCV positivity HCV RNA must be researched with molecular methods and viral load must be detected. Genotype results in our study are concordant with our environment. In diagnosis, treatment and follow up of the patients with HCV infection, HCV RNA detection must evaluate totally taking into account HCV genotype and hepatic enzymes.

Keywords

Hepatitis C Virus (HCV); HCV RNA; HCV Genotype; ALT

DOI: 10.4328/JCAM.2369 Received: 27.02.2014 Accepted: 15.04.2014 Printed: 01.11.2015 J Clin Anal Med 2015;6(6): 760-2
Corresponding Author: Dilara Yıldırım, Sivas Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sivas, Türkiye.
T.: +90 3462150438 F.: +90 3462221983 GSM: +905327013074 E-Mail: nidimay@gmail.com

Giriş

Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu dünyada yaklaşık 180 milyon kişiyi etkileyen, kronik karaciğer hastalığı, siroz ve hepatosellüler karsinomaya yol açabilen ve batıda KC transplantasyonunun birincil sebebi olan önemli bir sağlık sorunudur [1]

HCV enfeksiyonunun laboratuvar tanısında bugün en çok kullanılan yöntemler ELISA yöntemi ile anti-HCV tespiti, özellikle kronik karaciğer hastalıklarında serum alanin aminotransferazlarının (ALT) değerlendirilmesi ve moleküler yöntemler ile HCV RNA'nın araştırılmasıdır [2,3].

Klinikte HCV RNA, akut enfeksiyonda serokonversiyon öncesinde tanı koymada, antikor oluşturmayan kronik hepatitli hastaların tanısında, yenidoğan enfeksiyonlarının tanısında, antikoru pozitif hastalarda vireminin araştırılmasında ve antiviral tedavinin izlenmesinde kullanılır. Anti-HCV pozitif iken HCV RNA'nın negatif olduğu durumlarda ise, altı ay sonra HCV RNA ve ALT tekrarlanır. Yine HCV RNA negatif ve ALT normal ise HCV enfeksiyonunun iyleştiği söylenebilir. Bunun dışında yalancı ELISA pozitifliği, yalancı HCV RNA negatifliği veya nadiren intermittant yada düşük düzeyde viremi söz konusu olabilir [4].

Hepatit C virüsü diğer RNA virüsleri gibi kolay genomik değişikliğe uğrar. Replikasyon sırasında oluşan hatalar sonucu, kronik hepatit C'li hastalarda HCV'nin farklı genetik sekansları (quasispecies) ile HCV genotiplerini oluşturur. Bu genotip farklılıkları tedavi ve takipteki hastalığın prognozu ve tedavi maliyetindeki önemli belirteçlerdir [5].

Bu çalışmada, mikrobiyoloji laboratuarımıza başvuran ve anti-HCV değeri pozitif olan hastaların, serum HCV-RNA düzeyleri ve ALT düzeyleri arasındaki ilişkinin yanısıra HCV genotiplerinin dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya, Ocak -Aralık 2012 tarihleri arasında Sivas Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen ve anti-HCV pozitif olan hastalardan HCV RNA ve HCV genotip istemi yapılan 338 hasta dahil edildi. Hasta serumlarından Bosphore HCV Quantification Kit v2 (Anatolia GeneWorks, Türkiye) ve Magnesia 16 (Anatolia GeneWorks, Türkiye) otomatik izolasyon cihazı kullanılarak HCV RNA izolasyonu gerçekleştirildi.

Kantitatif HCV RNA tespiti, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT PCR) yöntemi ile Montania 483 (Anatolia Geneworks HCV, Türkiye) cihazı ile üretici firma talimatlarına uyularak yapıldı.

HCV RNA istemi yapılan ve HCV RNA pozitif 44 hastanın genotip tayini, Bosphore HCV genotip (Anatolia Geneworks Türkiye) kiti kullanılarak, HCV RNA'nın 8 farklı genotipi (1, 1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6) RT PCR yöntemi ile araştırıldı.

Hastaların HCV RNA istemleri ile eş zamanlı belirlenmiş olan serum ALT (Olympus AU2700) düzeyleri hasta dosyaları retrospektif incelenerek kaydedildi. ALT'nin referans üst düzeyi 40 IU/L olarak kabul edildi.

Verilerin girişi ve analizinde SPSS 15.0 Windows programının istatistik ölçütleri kullanıldı. Kategorik karşılaştırmalar iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ve ki-kare esas alınarak yapıldı.

Bulgular

HCV RNA ve anti HCV çalışılan toplam 338 hasta serumunun 123 (%36,4)'ünde HCV RNA düzeyi pozitif bulundu. 338 hasta içerisinde 289 hastanın ALT düzeylerine retrospektif olarak ulaşıldı. HCV RNA pozitif hastalar içinde ALT düzeyi 40'ın üzerinde olan 59 (%77.6) hasta tespit edildi. HCVRNA pozitif hastalar ile ALT düzeyi 40'ın üzerinde olan hastalar (Tablo_1) arasındaki ilişki anlamlı bulundu (x^2=77.635; p<0.001). HCV RNA genotipleri çalışılan 44 hastanın genotip dağılımına bakıldığında genotip 1b %84 (n=37), genotip 1a %11.4 (n=5), genotip 3 %2.3 (n=1), genotip 4 %2.3 (n=1) olarak tespit edildi (Tablo_2).

Tablo 1. HCV RNA pozitifliği ile ALT düzeyleri arasındaki ilişki (p<0.05)

	HCV RNA		
ALT düzeyi	Toplam	Pozitif	Negatif
≤40 IU/mL	45 (%21.1)	168 (%78.9)	213
>40 IU/mL	59 (%77.6)	17 (%22.4)	76
Toplam	104	185	289

Tablo 2. HCV genotip dağılımı

HCV GENOTİPLERİ	%	n
genotip 1b	84	(37)
genotip1a	11.4	(5)
genotip3	2.3	(1)
genotip4	2.3	(1)
TOPLAM	100	(44)

Genotiplerini tespit ettiğimiz hastaların serum ALT düzeyleri incelendiğinde, serum ALT düzeyleri ile genotip dağılımı arasında anlamlı bir fark bulunmadı (x^2=2,227; p=0.527).

Hasta grubumuzun %56'sını erkekler, %44'ünü ise kadınlar oluştururken, yaş dağılımına bakıldığında erkeklerin yaş ortalamasının 51.93±16, kadınların yaş ortalamasının 52.89±14 olduğu görüldü. Ayrıca HCV RNA pozitif hastaların ALT düzeyleri ile cinsiyet dağılımı açısından cinsiyetler arasında fark vardı. Erkeklere göre kadınların %61.5'inde ALT düzeyi 40'ın altında tespit edildi(x^2=12.352; p<0.001). HCV RNA pozitifliği ile cinsiyet dağılımı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (x^2=0.444; p=0.505).

Tartışma

Hepatit C enfeksiyonlarının tanı ve taramasında ELISA yöntemi ile anti-HCV bakılması, kullanımının kolay ve ucuz oluşu nedeniyle ülkemizde ve tüm dünyada ilk tercih edilen testlerdir. Özellikle HCV enfeksiyonu prevelansının % 10'dan düşük olduğu topluluklarda, tarama testlerinde yanlış pozitiflik oranı yüksektir [6,7]. Tarama testlerinde anti-HCV pozitif kişilerde daha spesifik rekombinant immunoblot assay (RIBA), nükleik asid testleri (NAT) veya RT PCR (RT-PCR) HCV RNA'nın doğrulanmasında genellikle kullanılır. Özellikle viral nükleik asitin moleküler yöntemlerle belirlenmesi hastalığın tanısında, tedavi ve prognozunun takibinde önem taşımaktadır [8,9].

Külah ve arkadaşları HCV RNA istemi olan 528 hastada yaptıkları çalışmada HCV RNA pozitif örneklerin %8.6'sında anti-HCV'yi negatif; HCV RNA negatif bulunan hastaların da %52.4'ünde anti-HCV'yi pozitif olarak tespit etmişlerdir. HCV RNA ve anti-HCV birlikte pozitif hastaların %42'sinde; HCV RNA negatif, anti-HCV pozitif hastaların ise %10.6'sında ALT değerleri 50 IU/mL üzerinde saptamışlardır [3].

Hastalığın tedavi ve takibinde farklı duyarlılığa sahip HCV geno-

tiplerinin de önemi vardır. RNA transkripsiyon hataları sonucu ortaya çıkan HCV virusünün altı farklı genotipi ve nükleotid seviyesindeki %31-32 farklılıklardan dolayı subtipleri olduğu saptanmıştır [10,11]. Her genotip ve subtipleri farklı coğrafi dağılım göstermektedir. Genotip 1, 2, 3, tüm dünyada yaygın şekilde görülürken, genotip 4 Ortadoğu ve Afrika'da görülmektedir [12]. Abacıoğlu ve arkadaşları tarafından 89 olgu ile yapılan çalışmada, genotip 1b %75.3, genotip 1a %19.1, genotip 2 %3.4 ve genotip 4 %2.2 oranında bildirilmiştir. Araştırıcılar ayrıca, kronik hepatit C'li hastalarda genotiplere göre serum ALT düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır [13].

2008 yılında İzmir'de yapılan ve 345 olguyu içeren Altuğlu ve arkadaşlarının çalışmasında, yine en sık genotip 1b (%87.2) saptanmış, diğer genotiplerin dağılımı ise sırasıyla genotip1a %9.9, genotip 3 %1.4, genotip 2 %0.9 ve genotip 4 %0.6 olarak tespit edilmiştir [14].

Küçüköztaş ve arkadaşlarının kronik hepatit C'li hastalarda yaptıkları çalışmada hastaların %76.9 (n= 40)'unda genotip 1b, %1.9 (n= 1)'unda genotip 1a, %3.8 (n= 2)'inde genotip 2a/2c, %9.6 (n= 5)'sında genotip 3a, %5.7 (n= 3)'sinde genotip 4e, ve %1.9 (n= 1)'unda genotip 4 belirlenmiştir [15].

Çelik ve arkadaşlarının 2010 yılında Sivas'da HCV-PM BIO (Lipa) yöntemi ile yaptıkları çalışmada HCV genotip 1b %88,2 genotip 1a %8,9, genotip 2a %1.12 genotip 3 %1,7 oranında görülmüştür [16].

Ağca ve arkadaşları 2013 yılında Bursa'da 231 hasta ile RT PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada %92,6 genotip 1, %0,4 genotip 2, %3,9 genotip 3, %3,1 oranında genotip 4 bulmuşlardır [17].

Tercan ve arkadaşları 2013 yılında Mersin'de revers hibridizasyon yöntemi ile yaptıkları çalışmada %84.7 oranında genotip 1b, %4.2 genotip 3a, %3.8 genotip 1, %2.1 genotip 1a/1b, %2 genotip 4, %1.7 genotip 1a, %1.3 genotip 2b, %0.4 genotip 2, %0.2 genotip 2a/2c ve ilk olarak ülkemizde %0.4 oranında genotip 6'yı bildirmişlerdir. Genotip 1b olgularının cinsiyet dağılımları ile serum ALT ve HCV-RNA düzeylerinin ortanca değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlemişlerdir ($p< 0.05$) [18].

Macaristanda Treso ve arkadaşlarının uyuşturucu kullananlar ve normal populasyon arasında yaptıkları çalışmada birinci grupta HCV genotip 1,3,4 oranlarını sırasıyla %74.2, %22.7, %3, normal popülasyonda genotip 1,3,4 oranlarını sırasıyla %96.6, %2.2, %1.1 olarak belirlemişlerdir. İki grup arasındaki incelemede uyuşturucu kullananlar ve yaşlılarda genotip 3'ün daha yüksek prevelansa sahip ve genotip dağılımlarının değişme eğiliminde olduğu görülmektedir [19].

Bizim çalışmamızda HCV genotip 1b %84.4 oranında görülürken HCV genotip 1a %11.4 genotip 3 ve genotip 4 %2.3 oranlarında görüldü. ALT düzeyi 40'ın üzerinde olan hastalar ile HCV RNA pozitif hastalar arasındaki ilişki anlamlı bulundu ($p<0,05$). Tüm bu veriler, ülkemizde yaygın olan HCV genotipinin, genotip 1b olduğunu; ALT düzeyi ile HCV RNA arasındaki ilişkinin ve ikinci sıklıkta görülen genotipin ise seçilen hasta grubuna göre değişkenlik gösterebildiğini düşündürmektedir.

Çıkar Çakışması ve Finansman Beyanı

Bu çalışmada çıkar çakışması ve finansman destek alındığı beyan edilmemiştir.

Kaynaklar

1. Davis GL, Albright JE, Cook SF, Rosenberg DM. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. Liver Transpl 2003;9: 331-8.
2. Moretti M, Pieretti B, Masucci A, Sisti D, Rocchi M, Delpretea E. Role of signal-to cutoff ratios in hepatitis C virus antibody detection. Clinical and Vaccine Immunol 2012; 19(8): 1329.
3. Külah C, Cömert FB, Aktaş E, Özlü N, Mengeloğlu Z. Serum ALT düzeyleri, HCV RNA ve anti-HCV arasındaki ilişki. Viral Hepatit Dergisi 2007; 12(3): 116-20.
4. Thomas DL, Lemon SM. Hepatitis C. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 1736-60.
5. Us T, Akgün Y, Kural M. RT-PCR ve üçüncü kuşak ELISA yötemleriyle saptanan HCV-RNA ve anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması. Viral Hepatit Dergisi 2001; (2): 298-301.
6. Centers for Disease Control and Prevention..Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. MMWR 2003; 52: 1–13.
7. Oethinger M, Mayo DR, Falcone J, Barua PK, Griffith BP. Efficiency of the Ortho VITROS assay for detection of hepatitis C virus specific antibodies increased by elimination of supplemental testing of samples with very low sample to cutoff ratios. J. Clin. Microbiol 2005; 43: 2477–80.
8. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody tohepatitis C virus. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 2003; 52: 1-13.
9. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deleage G, Enomoto N, Feinstone S. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. Hepatology 2005; 42(4): 962-73.
10. Rosen HR. Clinical practice chronic hepatitis C infection. N Engl J Med 2011;364(25):2429-38.
11. Noorali S, Pace DG, Bagasra O. Of lives and livers: emerging responses to the hepatitis C virus. J Infect Dev Ctries 2011;5(1):1-17.
12.Abacıoglu YH, Davidson F, Tuncer S. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. J Viral Hepatit 1995; 2(6): 297-301.
13. Altuglu I, Soyler I, Ozacar T, Erensoy S. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in Western Turkey. Int J Infect Dis 2008; 12: 239-44.
14. Küçüköztaş MF, Özgüneş N, Yazıcı S. Kronik hepatit C'li hastalarda hepatit C virusu (HCV) genotipleri ile alanin aminotransferaz ve HCV-RNA düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması. Mikrobiyol Bült 2010; 44: 111-5.
15.Çelik C, Bakıcı MZ, Kaygusuz R, Ertürk R. Sivas yöresindeki HCV genotip dağılımlarının araştırılması. Viral Hepatit Derg 2010; 16(3): 106-10.
16. Ağca H, Mıstık R, Kazak E. Güney Marmara bölgesinde hepatit C virüs genotiplerinin dağılımı. J of Clin and Anal Med 2013; DOI: 10.4328/ JCAM.1954.
17. Tezcan S, Ülger M, Aslan G,Yaraş S, Altıntaş E. Mersin ilinde hepatit C virusu genotip dağılımının belirlenmesi. Mikrobiyol Bült 2013; 47(2): 332-8.
18. Treso B, Takacs M, Dencs A, Dudas M, Par A, Rusvai E. Molecular epidemiology of hepatitis C virus genotypes and subtypes among injecting drug users in Hungary. Euro Surveill 2013; 18(47): 206-39.

How to cite this article:
Yıldırım D, Hasbek M, Alkan S, Nur N. Relationship Between HCV RNA and Serum Alanine Aminotransferase and HCV Genotype Distribution. J Clin Anal Med 2015;6(6): 760-2.