

ZONGULDAK BÖLGESİNDE HEPATİT C VİRUSU GENOTİPLERİ

HEPATITIS C VIRUS GENOTYPES IN A PROVINCE OF WESTERN BLACK-SEA REGION, TURKEY

Elif AKTAŞ¹, Esra Deniz ÖGEDEY¹, Canan KÜLAH¹, Füsun BEĞENDİK CÖMERT¹

¹ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak. (drelifaktas@yahoo.com)

ÖZET

Hepatit C virusu (HCV), gerek ülkemizde gerekse dünyada hepatit, siroz ve hepatoselüler kanserin önemli bir etkenidir. Altı genotipi ve 50'den fazla alt tipi tanımlanan HCV'nin genotiplendirilmesi, tedavi protokolünün seçilmesi ve klinik sürecin takibinde önem taşımaktadır; zira genotip 1 ile enfekte olgularda tedaviye yanıt ve tedavi başarısı oranı düşük olup tedavi süresi daha uzundur. Bu çalışmada, Zonguldak bölgesindeki kronik hepatit C hastalarında HCV genotip profillerinin saptanması ve bölgemize ait ilk verilerin sunulması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Mayıs 2007-Temmuz 2009 tarihleri arasında laboratuvarımızda anti-HCV ve HCV-RNA pozitif olarak saptanan ve retrospektif tarama ile belirlenen kronik hepatit C'li 44 hasta (26 kadın, 18 erkek; yaş aralığı: 29-89 yıl, yaş ortalaması: 60.05 ± 10.81 yıl) dahil edilmiştir. Hastaların alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri 8-160 IU/L arasında (ortalama: 63.99 ± 37.15 IU/L); aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri ise 17-160 IU/L arasında (ortalama: 62.77 ± 36.75 IU/L) değişmektedir. HCV antikor pozitifliği ELISA (Abbott Laboratories, ABD) yöntemi ile, HCV-RNA varlığı ise gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu temelli iki ayrı sistem kullanılarak [Cobas Taqman (Roche Diagnostic, ABD) ve Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, ABD)] belirlenmiştir. HCV genotiplendirmesi, ters hibridizasyon temelli bir yöntem olan Versant[®] HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0 (Bayer Health Care, Belçika) ile yapılmıştır. Genotiplendirme çalışması sonunda; HCV-RNA düzeyi düşük olan 5 (%11.4) hastada genotip belirlenememiş; genotip tayini yapılabilen 39 (%88.6) hastanın 38 (%97.4)'ünde genotip 1b, 1 (%2.6) hastada ise genotip 1a tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Zonguldak bölgesinden elde edilen bu ilk veriler, ülkemizde yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu olarak, en sık rastlanan HCV tipinin genotip 1b olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Hepatit C virusu, genotip, LiPA, Zonguldak.

ABSTRACT

Hepatitis C virus (HCV) is one of the significant causes of hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma all throughout the world. There are six genotypes and more than 50 subtypes of HCV. HCV genotyping is of crucial importance in the determination of the treatment protocols and the follow-up of the clinical course since treatment success is low and the duration of treatment is longer in HCV genotype 1 infected cases. The aim of the present study was to evaluate the HCV genotype profiles of the pa-

tients with chronic hepatitis C in Zonguldak, providing the first data about HCV genotypes from western Black-Sea region, Turkey. The HCV genotypes of 44 patients (26 female, 18 male; age range: 29-89 years, mean age: 60.05 ± 10.81 years) with positive anti-HCV antibody and HCV-RNA results, admitted to the hospital between May 2007 and July 2009, were retrospectively evaluated and included in the study. Alanine aminotransferase (ALT) levels of the patients were between 8-160 IU/L (mean 63.99 ± 37.15 IU/L) and the aspartate aminotransferase (AST) levels were between 17-160 IU/L (mean 62.77 ± 36.75 IU/L). HCV antibody was determined by ELISA method (Abbott Laboratories, USA), and HCV-RNA was determined by two commercial real-time polymerase chain reaction systems [Cobas Taqman (Roche Diagnostic, USA) and Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, USA)]. The genotyping was performed by a reverse hybridization based method, Versant® HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0 (Bayer Health Care, Belgium). HCV genotypes could not be determined for 5 (11.4%) patients since HCV-RNA levels were low. Genotyping could be performed for 39 (88.6%) patients and 38 (97.4%) had genotype 1b and one (2.6%) patient had genotype 1a. In conclusion, in concordance with the other studies conducted in our country, genotype 1b was found to be the most prevalent genotype in patients from our region.

Key words: Hepatitis C virus, genotype, LiPA, Turkey.

GİRİŞ

Hepatit C virusu (HCV), dünya çapında morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Zira enfeksiyonun kronikleşme oranının yüksek olması ve virusun uzun süreli persistansı, hastalarda karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinoma açısından risk oluşturmaktadır¹. Yapılan dizi analizi çalışmaları, HCV'nin 6 genotipi ve 50'den fazla alt tipi olduğunu ortaya koymuş; genotipler arasında yaklaşık %31-34 ve alt tipler arasında yaklaşık %20-23 oranında nükleotid dizi farklılıkları olduğu belirlenmiştir². Dünyada en sık görülen HCV genotipleri; genotip 1, 2 ve 3'tür³. Amerika'da genotip 1; Avrupa ve Japonya'da genotip 2 ve 3; Mısır ve Ortadoğu'da genotip 4; Güney Afrika'da genotip 5; Hong Kong ve diğer Güney Doğu Asya ülkelerinde ise genotip 6 yaygın olarak bulunmaktadır^{4,5}. Ülkemizde en sık saptanan genotip ise 1b olarak bildirilmektedir⁶⁻¹³.

HCV genotip tayini, özellikle kronik hepatit C'li olgularda antiviral tedaviye yanıtı belirleyen önemli bir parametredir. Genotip 1 ile enfekte hastalarda tedaviye yanıt ve tedavi başarısı oranı düşük ve tedavi süresi daha uzundur¹³. Bu çalışmada, tedavi protokollerinin düzenlenmesi ve HCV enfeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisinin belirlenmesi için Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde HCV genotip profillerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Mayıs 2007-Temmuz 2009 tarihleri arasında, laboratuvarımızda anti-HCV (ELISA; Abbott Laboratories, ABD) ve HCV-RNA [real-time PCR; Cobas Taqman (Roche Diagnostic, ABD) ve Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, ABD)] pozitif olarak saptanan ve retrospektif olarak yapılan dosya taramasında kronik hepatit C tanısı alan 44 hasta dahil edildi. Olgular ile ilgili demografik bilgiler, karaciğer enzimleri (ALT, AST) ve HCV-RNA düzeyleri kaydedildi. Çalışma, yerel etik kurul izni ile gerçekleştirildi.

HCV genotiplendirilmesi, ters hibridizasyon esaslı bir sistem olan Versant® HCV Genotype Assay (LiPA) 2.0 (Bayer Health Care, Belçika) ile yapıldı. Bu sistemde kısaca, HCV-RNA'nın 5' kodlamayan bölgesi (5'UTR), RT-PCR ile çoğaltıldı ve elde edilen nükleik asitler, hareket-sizleştirilmiş oligonükleotid primerleri ile hibridize edildi. Farklı HCV genotipleri için özgül olan problemlerin, nitroselüloz şerit üzerinde bağlanmasıyla oluşan bantlar değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 44 hastanın 26'sı kadın, 18'i erkek olup, yaş ortalaması 60.05 ± 10.81 yıl (yaş aralığı: 29-89 yıl)'dır. Hastaların ALT düzeyleri 8-160 IU/L arasında (ortalama: 63.99 ± 37.15 IU/L); AST düzeyleri ise 17-160 IU/L arasında (ortalama: 62.77 ± 36.75 IU/L) değişmektedir.

Genotiplendirme çalışması sonunda, 5 (%11.4) olguda genotip belirlenememiş; genotip tayini yapılabilen 39 hastanın 38 (%97.4)'ünde genotip 1b, sadece 1 (%2.6) hastada ise genotip 1a tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Kronik hepatitte tedavi protokollerinin önemli bir belirleyicisi olan HCV genotiplerinin dağılımı üzerine ülkemizde pek çok çalışma yapılmıştır. Abacıoğlu ve arkadaşlarının⁶ İzmir'de 1995 yılında yaptıkları çalışmada, genotip 1b %75.3, genotip 1a %19.1, genotip 2 %3.4 ve genotip 4 %2.2 oranında bulunmuştur. Sönmez ve arkadaşları⁷, 1996 yılında Malatya, Erzurum, Samsun ve Konya'yı kapsayan çok merkezli çalışmalarında genotip 1b'yi %69.5, genotip 1a'yı %5.1 oranında bulmuşlar, ancak %25.4 olguda genotip saptayamamışlardır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde 1999 yılında Kendal ve arkadaşlarının⁸ yaptıkları çalışmada, genotip 1b %100 olarak saptanmıştır. Bozdayı ve arkadaşlarının¹⁰ Ankara'da 2002 yılında yaptıkları çalışmada genotip 1b %77.8, genotip 1a ise %22.2 oranında bulunurken, 2004 yılındaki çalışmalarında¹¹ genotip 1b %84, genotip 1a %11, genotip 2 %3, genotip 3 %1, genotip 4 ise %1 olarak saptanmıştır. Bozdayı ve arkadaşlarının bu iki çalışması kıyaslandığında; Ankara'da baskın olan genotipin (1b) değişmediği, bununla birlikte diğer tiplerin (genotip 2, 3, 4) de ortaya çıktığı gözlenmektedir. 2004 yılında Çil ve arkadaşlarının¹² Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yaptıkları çalışmada genotip 1b %72.8, genotip 1a %22.7 ve genotip 3a %4.5 olarak saptanmış ve Kendal ve arkadaşlarının⁸ aynı bölgedeki beş yıl önceki çalışmaları ile kıyaslandığında, bölgedeki baskın genotipin 1b olarak kaldığı, ancak zamanla oranının azaldığı ve diğer genotiplerin (1a, 3a) de ortaya çıktığı izlenmiştir. 2007 yılında Ural ve arkadaşlarının¹³ Konya bölgesindeki çalışmalarında da genotip 1b %100 oranında bulunmuştur.¹³ Türkiye'de yapılan tüm bu çalışmalar, oranı farklı bölgelere göre değişmekle birlikte (%66.7-100) en sık rastlanılan HCV tipinin, genotip 1b olduğunu; bunu %2-33.3 oranları ile genotip 1a'nın takip ettiğini; daha az oranlarda saptanan genotip 2a, 3a, 4 ve 4c'nin ise sayılarının gün geçtikçe arttığını vurgulamaktadır⁶⁻¹³.

Hastanemizde 2009 yılında kayıt altına alınan akut/kronik hepatit C'li olgu sayısı 349 olarak verilmektedir; ancak Zonguldak ili genelinde güvenilir yıllık olgu sayısına ulaşamamıştır. Çalışmamızda, Mayıs 2007-Temmuz 2009 tarihleri arasında laboratuvarımızda

anti-HCV ve HCV-RNA pozitif olarak saptanan 44 kronik hepatit C'li hastanın 38 (%86.4)'inde genotip 1b, 1 (%2.3)'inde genotip 1a saptanmış, HCV-RNA düzeyi düşük olan 5 (%11.4) hastada ise genotiplendirme yapılamamıştır.

HCV genotiplerinin saptanmasında, hibridizasyon temelli genotiplendirme yöntemleri, günümüzde cazip hale gelen yöntemler olmuşturlardır. HCV genotiplendirmesinde, Versant® HCV Genotype Assay 2.0 (LiPA)'nin dizi analizi yöntemi ile karşılaştırıldığı çeşitli çalışmalarda, LiPA yönteminin dizi analizi ile uyumu %64.7-100 arasında bildirilmektedir^{14,15}. Çalışmamızda, HCV genotiplendirmesinde kullandığımız LiPA yönteminin, üretici firma tarafından katalogda verilen duyarlılığı %91 olup, bizim çalışmamızda bu oran %88.6 (39/44) olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, ülkemizdeki diğer çalışmaların sonuçlarına paralel olarak, hastanemize başvuran hepatit C'li hastalarda da en yaygın görülen genotipin, genotip 1b olduğu saptanmış ve bu çalışma ile Zonguldak bölgesinde HCV genotipleri ile ilgili ilk veriler ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Lee CM, Hung CH, Lu SN, Changchien CS. Hepatitis C virus genotypes: clinical relevance and therapeutic implications. *Chang Gung Med J* 2008; 31: 16-25.
2. Czepiel J, Biesiada G, Mach T. Viral hepatitis C. *Pol Arch Med Wewn* 2008; 118: 734-40.
3. McOmish F, Yap PL, Dow BC, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 884-92.
4. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 558-67.
5. Bellentani S, Miglioli L, Bedogni G. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2005; 51: 15-29.
6. Abacıoğlu YH, Davidson F, Tuncer S, et al. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. *J Viral Hepat* 1995; 2: 297-301.
7. Sönmez E, Taşyaran MA, Kızılkaya N, et al. The distribution of hepatitis C virus (HCV) genotypes in 59 HCV infected patients: a multicenter study. *FLORA* 1996; 1: 92-5.
8. Yalçın K, Değertekin H, Akkız H. HCV genotypes in HCV related chronic hepatitis in Southeast Anatolia. *Turkish J Gastroenterol* 1999; 10: 249-52.
9. Yarkin F, Hafta A. Kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda hepatit C virüsü (HCV) genotiplerinin dağılımı. *Viral Hepatit Derg* 2000; 6: 164-8.
10. Bozdayı G, Verdi H, Rota S ve ark. Hemodiyaliz hastalarında hepatit C virus enfeksiyon varlığının araştırılması ve HCV genotip dağılımının belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2002; 36: 291-304.
11. Bozdayı AM, Aslan N, Bozdayı G, Turkyılmaz AR, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients. *Arch Virol* 2004; 149: 2115-29.
12. Çil T, Özekinci T, Göral V, Altıntaş A. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde hepatit C virüsü genotipleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 496-500.
13. Ural O, Arslan U, Fındık D. Konya bölgesinde hepatit C virüsü genotip dağılımı. *İnfeksiyon Derg* 2007; 21: 175-81.
14. Verbeeck J, Stanley MJ, Shieh J, et al. Evaluation of Versant Hepatitis C Virus Genotype Assay (LiPA) 2.0. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1901-6.
15. Nadarajah R, Khan GY, Miller AS. Evaluation of a new-generation line-probe assay that detects 5' untranslated and core regions to genotype and subtype hepatitis C Virus. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 300-4.