

# Hepatit B Enfeksiyonunda Atipik Serolojik Profiller: HBsAg ve Anti-HBs Birlikte Pozitif Olgularda S Geni Mutasyonlarının Araştırılması\*

## Atypical Serological Profiles in Hepatitis B Infections: Investigation of S Gene Mutations in Cases with Concurrently Positive for HBsAg and Anti-HBs

Neriman AYDIN<sup>1</sup>, Sevin KIRDAR<sup>1</sup>, Nilgül UZUN<sup>1</sup>, Mete EYİGÖR<sup>1</sup>, Murat SAYAN<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

<sup>1</sup> Adnan Menderes University Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, Aydın, Turkey.

<sup>2</sup> Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Laboratuvarı, PCR Ünitesi, Kocaeli.

<sup>2</sup> Kocaeli University Medical Faculty Hospital, Central Laboratory, PC Unit, Kocaeli, Turkey.

<sup>3</sup> Yakın Doğu Üniversitesi, Deneysel Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi, Lefkoşa, KKTC.

<sup>3</sup> Near East University, Experimental Health Sciences Research Center, Nicosia, TRNC.

\* Bu çalışma, 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi (10-13 Kasım 2013, Antalya)'nde "Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesine başvuran hastalarda viral hepatit B atipik serolojileri" ve XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (12-16 Kasım 2014, Antalya)'nde "HBsAg/Anti-HBs birlikte pozitif kronik hepatit B hastalarında polimeraz (pol)/yüzey (S) geni çakışma mutasyonları" olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 10.05.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 12.10.2016

### ÖZ

Hepatit B virusu (HBV), asemptomatik taşıyıcılıktan, kronik hepatit veya fulminan hepatite kadar değişen klinik tablolara neden olmaktadır. HBV enfeksiyonunun tanısında, virusa ait belirteçlerin tespitinde serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bazı hastalarda atipik serolojik profillerle karşılaşılması, sonuçların yorumlanmasını ve hasta yönetimini güçleştirmektedir. Bu çalışmada, HBV enfeksiyonu olan hastalarda atipik serolojik profillerin belirlenmesi ve HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitif hastalarda S geni mutasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Ocak-Eylül 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza hepatit B ön tanısı ile gönderilen ve HBV belirteçleri (HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc-IgM, anti-HBc-total ve HBV-DNA) çalışılan 592 hastaya (332 erkek, 260 kadın; yaş aralığı: 13-84 yıl, yaş ortalaması: 43.9 yıl) ait serum örneği dahil edilmiştir. Bu hastalardan 364'ünde sadece HBsAg ve anti-HBs testleri çalışılmıştır. HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitif bulunan serum örneklerinde S geni mutasyonları DNA dizi analizi yöntemiyle araştırılmıştır. Çalışmamızda, hastaların %5.2'sinde (31/592) atipik serolojik

**İletişim (Correspondence):** Prof. Dr. Neriman Aydın, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 09010 Aydın Aydın, Türkiye. Tel (Phone): +90 506 612 8063, E-posta (E-mail): nerimanaydin@yahoo.com

profiller tespit edilmiştir. Bunlardan 13'ü HBsAg ve anti-HBs pozitif; dokuzu HBeAg pozitif, anti-HBe ve HBV-DNA negatif; sekizi HBeAg, anti-HBe ve HBV-DNA pozitif; biri ise HBsAg ve anti-HBs negatif, anti-HBe ve HBV-DNA pozitif bulunan olgulardır. HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitiflik oranı %3.6 (13/364) olarak saptanmış; bu hastaların %76.9'unda (10/13) HBV-DNA da pozitif bulunmuştur. HBsAg, anti-HBs ve HBV-DNA belirteçleri pozitif olan 10 örneğin yedisine dizi analizi uygulanmış, ancak üç örnek yetersiz olduğu için çalışılmamıştır. DNA dizi analizi sonunda, iki örnekte S geni mutasyonu (birinde sS143L ile sS193L, HBV aşı kaçak mutasyonu; diğesinde sP120R, HBV immün kaçak mutasyonu) belirlenmiştir. Hastaların %2.7'sinde (10/364) HBsAg ve anti-HBs birlikte negatif bulunmuş; bunların dokuzunda HBV-DNA negatif, anti-HBe pozitif iken; birinde hem HBV-DNA hem de anti-HBe pozitif olarak tespit edilmiştir. HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitifliği ise hastaların %1.4'ünde (8/592) izlenmiş; bunların tümünde HBV-DNA'nın pozitif olduğu belirlenmiştir. Hastaların hiçbirinde tek başına HBsAg, anti-HBc, anti-HBs veya HBV-DNA pozitifliği saptanmamıştır. Sonuç olarak çalışmamızda, HBV enfeksiyonu sırasında en sık tespit edilen atipik serolojik profil HBsAg ve anti-HBs birlikteliği olmuş (%3.6), bunların bazılarında (2/7) S gen mutasyonu gösterilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Hepatit B virusu; atipik serolojik profil; S geni; mutasyon.

## ABSTRACT

Hepatitis B virus (HBV) causes different clinical manifestations, ranging from asymptomatic carriage to fulminant or chronic hepatitis. Serological tests are widely used for the diagnosis of HBV infections to detect viral markers. However, facing with atypical serological profiles in some patients leads to problems in interpreting the results and management of the patients. The aims of this study were to investigate the atypical serologic profiles seen in patients screened for HBV infection and the S gene mutations in patients with concurrent positivity of HBsAg and anti-HBs. A total of 592 sera from patients (332 male, 260 female; age range: 13-84 years, mean age: 43.9 years) prediagnosed as HBV infection between January to September 2013, and screened for HBV markers (HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc-IgM, anti-HBc-total and HBV-DNA) were included in the study. Of those samples 364 were screened only for HBsAg and anti-HBs markers. S gene mutations were investigated by direct sequencing method in sera which were concurrent positive for HBsAg and anti-HBs. In our study, 5.2% (31/592) of the sera yielded atypical serologic profiles. Of these 13 cases were concurrently positive for HBsAg and anti-HBs; nine were HBeAg positive, anti-HBe and HBV-DNA negative; eight were HBeAg, anti-HBe and HBV-DNA positive; and one was HBsAg and anti-HBs negative, anti-HBe and HBV-DNA positive. The rate of concurrent positivity of HBsAg and anti-HBs was 3.6% (13/364), while 76.9% (10/13) of those cases were also positive for HBV-DNA. DNA sequencing was performed for seven out of 10 samples which were positive for HBsAg, anti-HBs and HBV-DNA, however three samples were not used because of the low amounts. Sequence analysis of seven samples showed S gene mutations in two samples, one was sS143L with sS193L, a HBV vaccine escape mutation, and the other was sP120R, a HBV immune escape mutation. Of the patients 2.7% (10/364) was negative for both HBsAg and anti-HBs; in which nine were HBV-DNA negative and anti-HBe positive, while one was positive for both HBV-DNA and anti-HBe. The rate of concurrent positivity of HBeAg and anti-HBe was found as 1.4% (8/592), and all of these samples were HBV-DNA positive. No single positivity for HBsAg, anti-HBc, anti-HBs or HBV-DNA was not detected in any of the patients. In conclusion, HBsAg and anti-HBs concurrent positivity was the most frequently detected atypical profile in our study (3.6%), and in some (2/7) of these patients S gene mutations were determined.

**Keywords:** Hepatitis B virus; atypical serological profile; S gene; mutation.

## GİRİŞ

Hepatit B virusu (HBV), asemptomatik taşıyıcılıktan, kronik hepatit veya fulminan hepatite kadar değişen klinik tablolara neden olmaktadır. Kronik hepatit B (KHB), siroz ve karaciğer kanseri gibi ciddi hastalıklara yol açması nedeniyle, dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli sağlık problemlerinden biridir<sup>1,2</sup>. Tüm dünya nüfusunun üçte birine yakınının virüsle karşılaştığı, bunların 400 milyona yakınında kronik enfeksiyon geliştiği bilinmektedir. Ülkemizde HBV yüzey antijeni (HBsAg) sıklığı bölgeden bölgeye değişmekle birlikte %2-14.3 arasında olup, ülkemiz epidemiyolojik olarak orta endemik ülkeler arasında yer almaktadır<sup>1</sup>.

HBV enfeksiyonunun tanısında serolojik testler yaygın olarak kullanılmaktadır. HBV antijenlerinin ve bunlara karşı oluşan antikorların çeşitliliği ve hastalık sırasında atipik serolojik profillerin görülmesi, serolojik sonuçların değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Atipik serolojik profiller, laboratuvar kaynaklı ya da virusa ve/veya konağa bağlı olarak görülebilmektedir. Laboratuvar kaynaklı nedenler arasında; örneğin alınması, taşınması veya saklanması, tanı kitindeki sorunlar ve analiz sırasında oluşan hatalar sayılabilir. Virusa ve konağa bağlı olan faktörler ise; çoklu virus enfeksiyonları, yeni viruslar veya mutantlarla enfeksiyon, konağın antikor yanıtında yetersizlik ya da cevapsızlık, transfüzyon ve pasif antikor geçişi olarak sıralanabilir<sup>3,4</sup>.

HBV genomunda, polimeraz (*pol*) ve yüzey (*S*) genleri üst üste gelerek bazı kodonları çakışmaktadır<sup>5,6</sup>. HBV *pol* geninde oluşan primer/kompansatuvar nükleozid/nükleotid analogu (NA) direnç mutasyonları, HBsAg kodlayan bölgede değişikliklere neden olabilmektedir<sup>6-8</sup>. HBV'nin "a" determinantındaki değişikliklerin de, polimeraz fonksiyonunda değişiklik oluşturma potansiyeli olduğu bildirilmektedir<sup>8</sup>. Bu çalışmada, HBV enfeksiyonu olan hastalarda atipik serolojik profillerin belirlenmesi ve HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitif hastalarda *S* geni mutasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Çalışma grubu

Çalışmada, Ocak-Eylül 2013 tarihleri arasında, çeşitli kliniklerden Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına rutin tetkik amacıyla gönderilen hepatit B ön tanılı hastaların HBV belirteçleri incelendi ve HBsAg, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc-IgM, anti-HBc-total ve HBV-DNA sonuçları belirlenen 592 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalardan 364'ü için sadece HBsAg ve anti-HBs istemi yapılmıştı. Hastaların birden fazla sonucu değerlendirmeye alınmadı.

### HBV serolojisi ve HBV-DNA polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Hastalardan alınan serum örneklerinde HBsAg ve anti-HBs, mikroenzim immünolojik yöntemi (EIA) (Triturus® System, Grifols, ABD); anti-HBc-IgM, anti-HBc-total, HBeAg ve anti-HBe göstergeleri ise kemilüminesans yöntemi (Architect i2000SR Abbott, ABD) ile çalışıldı.

HBV-DNA izolasyonu, serum örneklerinde High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Diagnostic, Almanya) kullanılarak üretici firma önerilerine göre yapıldı. HBV-DNA düzeyleri ise, gerçek zamanlı PCR (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test, version 2.0, Roche, ABD) yöntemi ile belirlendi (saptama aralığı: 20 IU/ml-1.7x10<sup>8</sup> IU/ml).

### DNA dizi analizi

HBV S geni (HBsAg proteini; 111.-227. aminoasitler arası) mutasyonları, HBV *pol* geni (ters transkriptaz; RT bölgesi, 80.-250. aminoasitler arası) dizilenecek analiz edildi<sup>9</sup>. Bu amaçla serum örneğinden HBV-DNA izole edildi (Anatolia Geneworks, Bosphore Viral DNA Extraction Spin Kit ve Magnesia®16 Magnetic Bead Extraction System, İstanbul, Türkiye). HBV *pol* geni amplifikasyonu (742 baz çifti [bp]) için ileri (F: 5'-tcgtgggtggactctctcaatt-3') ve geri (R: 5'-cgttgacagactttccaatcaat-3') primerler kullanıldı. PCR koşulları için 95°C'de 10 dakika ön denatürasyon, ardından 35 döngü 95°C'de 45 saniye, 60°C'de 45 saniye ve 72°C'de 45 saniye ısı/zaman döngüsü uygulandı<sup>9</sup>. Tüm PCR ürünleri High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics, Almanya) ile saflaştırıldı. Dizileme protokolünde Phire Hot Start DNA polimeraz (Finnzymes Oy, Finlandiya) enzimi kullanıldı. Dizileme, Big Dye Terminator v3.1 CycleSequencing Kit (Amersham Pharmacia Biotech Inc., ABD), 36 cm kapiller ve POP-7 TM polimer (Applied Biosystems Inc., ABD) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems Inc., ABD) platformunda gerçekleştirildi. Elde edilen diziler Geno2pheno programında (Center of Advanced European Studies and Research, Almanya) analiz edildi. Geno2pheno programı, fasta formatındaki bilinmeyen nükleik asit dizilerini databazında bulunan referans dizilerle karşılaştırmaktadır. Karşılaştırma sonrasında HBV RT kangalı ile çıkan S gen bölgesinde; 121., 135., 137., 139.-149., 151-153., 155-157., 161., 164., 172., 173., 175., 176., 182., 193-196. aminoasit pozisyonları mutasyonlar yönünden analiz edildi<sup>10</sup>.

### BULGULAR

Çalışmaya alınan 592 hastanın 332'si (%56.1) erkek, 260'ı (%43.9) kadın olup, yaşları 13-84 (yaş ortalaması: 43.9) yıl arasında değişmektedir. HBV belirteçlerinin değerlendirilmesi sonunda, 31 (%5.2) hastada atipik serolojik profiller tespit edilmiştir (Tablo I).

Çalışmamızda, 8 (%1.4) hastada HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitif olarak saptanmış; bu hastaların tümünde HBV-DNA'nın pozitif olduğu izlenmiştir (Tablo II). HBsAg ve anti-

**Tablo I.** Hepatit B'li hastalarda saptanan atipik profiller

Atipik profil	Hasta sayısı
HBsAg (+), Anti-HBs (+)	13
HBeAg (+), Anti-HBe (-), HBV-DNA (-)	9
HBeAg (+), Anti-HBe (+), HBV-DNA (+)	8
HBsAg (-), Anti-HBs (-), Anti-HBe (+), HBV-DNA (+)	1
Toplam	31

HBs birlikte pozitifliği, 364 hastanın 13'ünde (%3.6) belirlenmiş ve bu hastaların 10'unda (%76.9) HBV-DNA da pozitif olarak saptanmıştır (Tablo III). HBsAg ve anti-HBs birlikte negatifliği ise 10 (%2.7) hastada tespit edilmiş; bunların 9'unda HBV-DNA negatif, anti-HBe pozitif iken; birinde hem HBV-DNA hem de anti-HBe pozitif olarak tespit edilmiştir. Tek başına anti-HBc, HBsAg ve anti-HBs pozitifliği saptanmamıştır.

HBsAg, anti-HBs ve HBV-DNA belirteçleri pozitif olan 10 örneğin 7'sine dizi analizi uygulanmış, ancak 3 örnek yetersiz olduğu için çalışılmamıştır. DNA dizi analizi sonunda, 2 örnekte 5 geni mutasyonu belirlenmiştir (Tablo IV).

## TARTIŞMA

Kronik hepatit B (KHB) enfeksiyonu olan hastalarda; HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitifliği, HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitifliği, izole anti-HBc pozitifliği gibi atipik serolojik profillerle karşılaşmaktadır<sup>3,11-14</sup>. Sunulan bu çalışmada, HBV enfeksiyonu olan hastalarda görülen atipik serolojik profillerin ve HBsAg/anti-HBs birlikte pozitifliğinde 5 geni mutasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda, hastaların %5.2'sinde (31/592) atipik serolojik profiller tespit edilmiştir (Tablo I).

HBsAg ve anti-HBs'nin birlikte pozitifliğine, viral genomda 5 gen bölgesinde ortaya çıkan ve nötralizan antikorların hedefi olan "a" determinantının yapısını değiştirerek (çeşitli aminoasit pozisyonlarını etkileyerek) majör antijenik farklılıklara neden olan immün kaçış (escape) mutasyonları yol açabilmektedir. Bu durum aşı ya da poliklonal hepatit B immüno globulini (HBIG) ile profilaksi uygulanan bazı olgularda görülebilmektedir<sup>4,14,15</sup>.

**Tablo II.** Hepatit B'li hastalarda HBeAg, anti-HBe ve HBV-DNA belirteçlerinin dağılımı

	HBeAg (-) Anti-HBe (+)	HBeAg (+) Anti-HBe (-)	HBeAg (+) Anti-HBe (+)	HBeAg (-) Anti-HBe (-)	Toplam
	Sayı (%) <sup>a</sup>	Sayı (%) <sup>a</sup>	Sayı (%) <sup>a</sup>	Sayı (%) <sup>a</sup>	
HBV-DNA (+)	364 (83.9)	62 (14.3)	8 (1.8)	-	434 (73.3)
HBV-DNA (-)	147 (93)	9 (5.7)	-	2 <sup>c</sup> (1.3)	158 (26.7)
Toplam	511 (86.3)	71 (12)	8 (1.4)	2 (0.3)	592 (100)

(-): Negatif; (+): Pozitif; <sup>a</sup>: Satır yüzdesidir; <sup>b</sup>: Sütun yüzdesidir. <sup>c</sup>: Anti-HBs ve anti-HBc-total testleri pozitifdir.

**Tablo III.** Hepatit B'li hastalarda HBsAg, anti-HBs ve HBV-DNA belirteçlerinin dağılımı

	HBsAg (+)* Anti-HBs (-)*	HBsAg (-) Anti-HBs (+)	HBsAg (+) Anti-HBs (+)	HBsAg (-) Anti-HBs (-)	Toplam
	Sayı (%) <sup>a</sup>	Sayı (%) <sup>a</sup>	Sayı (%) <sup>a</sup>	Sayı (%) <sup>a</sup>	
HBV-DNA (+)	240 (95.6)	-	10 (4)	1 <sup>c</sup> (0.4)	251 (69)
HBV-DNA (-)	93 (82.3)	8 (7.1)	3 (2.6)	9 <sup>d</sup> (7.9)	113 (31)
Toplam	333 (91.5)	8 (2.2)	13 (3.6)	10 (2.7)	364 (100)

\* (-): Negatif; (+): Pozitif; <sup>a</sup>: Satır yüzdesidir; <sup>b</sup>: Sütun yüzdesidir; <sup>c</sup>: Anti-HBe pozitifdir; <sup>d</sup>: Anti-HBe sonuçları pozitif, birinin ise anti-HBc-total sonucu pozitifdir.

**Tablo IV.** HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitif olan hepatit B'li hastalarda S geni mutasyonları

Hasta no.	Cinsiyet/Yaş	Anti-HBs düzeyi (IU/ml)	HBV-DNA düzeyi (IU/ml)	S geni mutasyonu	Klinik yorum
1	E/53	55.1	3.120	-	
2	K/45	14.9	2.060	-	
3	K/51	57.7	37.500	-	
4	K/59	26.2	344	-	
5	E/80	14.3	25.800	-	
6	K/60	27.6	148	sS143L, sS193L	HBV aşı kaçığı mutasyonu
7	E/47	20.8	144	sP120R	HBV immün kaçık mutasyonu

Ayrıca KHB'li hastalarda HBsAg ve anti-HBs'nin birlikte pozitifliği; anti-HBs'nin immün baskısı ile HBV kaçık mutantların seçilmesi, ikinci bir HBV kökeni ile enfeksiyon, gizli hepatit B enfeksiyonunda HBV reaktivasyonu ve yanlış anti-HBs pozitifliği gibi durumlarda saptanabilmektedir<sup>4,8,16</sup>. Yapılan farklı çalışmalarda, HBsAg ve anti-HBs'nin birlikte pozitifliği %3.1 ile %30 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir<sup>13-18</sup>. Bizim çalışmamızda, hastaların %3.6'sında (13/364) HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitifliği tespit edilmiş; bu 13 hastanın 10'unda HBV-DNA pozitif, üçünde ise HBV-DNA negatif bulunmuştur. HBV-DNA pozitif olan 10 örnekten yedisine dizi analizi yapılmış ve ikisinde S geni mutasyonu [(sS143L ile sS193L HBV aşı kaçık ve sP120R HBV immün kaçık mutasyonu)] belirlenmiştir (Tablo IV). HBV-DNA pozitif üç hastada ise örnek yetersizliği nedeniyle DNA dizi analizi yapılamamıştır.

HBsAg ve anti-HBs birlikteliğinin, ilerlemiş fibroz ve siroz gibi ileri dönem karaciğer hastalığı ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmaların yanı sıra, anlamlı klinik farklılık olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur<sup>15,19</sup>. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, HBV ile ilişkili karaciğer kanserinin gelişiminde, HBsAg/anti-HBs birlikteliğinin ve pre-S delesyonlarının bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir<sup>20,21</sup>. KHB sırasında HBsAg ve anti-HBs'nin birlikte pozitif bulunması durumunda, HBV S gen mutasyonlarının araştırılması ve bu hastaların yakın takibi önemli olmaktadır<sup>21</sup>. Ayrıca bu atipik profilin; hemodiyaliz hastaları, transplant alıcıları, HIV ile enfekte hastalar, kemoterapi veya immün süpresif tedavi gören hastalarda da sık görülebildiği bildirilmektedir<sup>19</sup>.

HBV serolojisinde karşılaşılan atipik profillerden bir diğeri, HBeAg ve anti-HBe'nin birlikte pozitifliğidir. Anti-HBe antikoru, HBeAg'nin kaybolmasını takiben hemen veya 1-2 hafta sonra ortaya çıkabilir. Dolayısıyla bu serolojik profil, bazı olgularda çok kısa bir dönem görülebilir<sup>8</sup>. Çalışmamızda, hastaların %1.4'ünde (8/592) HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitifliği saptanmıştır. Bu hastaların hepsi HBV-DNA pozitif olup, ilerleyen dönemlerde HBeAg'lerinin negatifleşeceği ve anti-HBe'lerinin pozitif olarak devam edeceği öngörülebilir. Bu hastalar prekor ve/veya bazal kor promotör mutasyonları yönünden

araştırılabilir<sup>22</sup>. Zira anti-HBe ve HBV-DNA pozitifliği, genellikle prekor bölgesinde “stop kodon” oluşturan nokta mutasyonu (glisin-arginin değişimi) ile açıklanmaktadır<sup>23</sup>. Bu durumda virus replikasyonunun devamına rağmen HBeAg üretilmemektedir<sup>24</sup>. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda, anti-HBe ve HBV-DNA pozitifliği %20-51 oranları arasında bildirilmektedir<sup>11,23,25-27</sup>. Çalışmamızda saptanan anti-HBe ve HBV-DNA birlikte pozitifliği %62.8 (372/592) oranı ile diğer çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur (Tablo II).

Kronik hepatit B enfeksiyonlu olguların bazılarında HBeAg pozitifliğine rağmen, viral replikasyonu gösteren virus DNA'sına rastlanmamaktadır. Bu durum, HBeAg'nin lipoproteinler gibi çeşitli makromoleküllere bağlanması ve atılımının gecikmesi nedeniyle ortaya çıkabilir<sup>1</sup>. Ayrıca, HBeAg pozitif olgularda HBV-DNA'nın negatif veya düşük pozitif bulunması, uygulanan antiviral tedaviye bağlı olarak HBV sentezinin inhibisyonu ile de ilişkili olabilir<sup>27</sup>. Çalışmamızda, HBeAg pozitif, HBV-DNA negatif olgu oranı %1.5 (9/592) olarak bulunmuştur (Tablo II). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda bu oran %0.5 ile %19.5 arasında bildirilmektedir<sup>11,27-29</sup>.

Hepatit B enfeksiyonu sırasında görülen atipik serolojik profillerden biri de, pencere dönemi olarak da adlandırılan HBsAg ve anti-HBs'nin birlikte negatifliğidir<sup>1,3</sup>. Çalışmamızda, HBsAg ve anti-HBs araştırılan 364 hastanın 10'unda (%2.7) her iki gösterge de negatif bulunmuştur (Tablo III). Bu hastalardan birinin HBV-DNA ve anti-HBe testleri pozitif, dokuzunun ise HBV-DNA'sı negatif anti-HBe sonuçları pozitif bulunmuştur. Bu veriler, pencere dönemindeki HBV enfeksiyonunu tanımlayabilmek için, HBsAg ve anti-HBs'nin yanında başta anti-HBc olmak üzere diğer belirteçlerin de araştırılmasının gerekli olduğunu bir kez daha vurgulamıştır.

İzole anti-HBs pozitifliği, HBV aşısı uygulanan kişilerde ve özellikle sağlık çalışanlarında enfeksiyöz olmayan HBsAg ile karşılaşma durumunda saptanabilmektedir<sup>8</sup>. İzole anti-HBc pozitifliği ise; hastalıktan iyileşen kişilerde pencere döneminde, okült hepatitte, mutant suş enfeksiyonunda, immün kompleks oluşumu nedeniyle HBsAg veya anti-HBs'nin standart testlerle saptanamadığı durumlarda, anti-HBs'nin saptanamayacak düzeylere gerilediği eskiden geçirilmiş enfeksiyonlarda ya da HCV ve HDV virusları ile koenfeksiyon sırasında görülebilmektedir<sup>8,12</sup>. Çalışmamızda izole anti-HBs ve anti-HBc pozitifliğine rastlanmamıştır. Bu durum, çalışmamızdaki örnek sayısı veya seçimi ile ilişkili olabilir. Ayrıca, HBV enfeksiyonu olan hastalarda tespit edilen izole HBV-DNA pozitifliğinin, mutant suşlara bağlı olabileceği ya da serumda bulunan inaktif, degrade DNA parçacıklarının amplifikasyonu sonucu ortaya çıkabileceği belirtilmektedir. Dolayısıyla HBV-DNA'nın saptanması, mutlaka aktif replikasyonun göstergesi değildir<sup>23</sup>. Bizim çalışmamızda, tek başına HBV-DNA pozitifliği tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak, HBV enfeksiyonu sırasında karşılaşılan farklı atipik profiller, gerek sonuçların yorumunu gerekse hasta yönetimini zorlaştırmaktadır. HBsAg ve anti-HBs'nin birlikte pozitifliği en sık karşılaşılan atipik serolojik profil olup, hepatokarsinogenez, fibroz ve siroz oluşumu ile ilişkilendirildiğinden, bu tip hastalarda S geni mutasyonlarının ve prognozla ilişkisinin araştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Badur S. Hepatit A, B ve D virusları, s: 295-334. Us AD, Ergünay K (ed), Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. 2012, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
2. Alagozlu H, Ozdemir Ö, Koksall B, Yılmaz A, Coskun M. Prevalence of common YMDD motif mutations in long term treated chronic HBV infections in a Turkish population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(9):5489-94.
3. Öztürk R. Viral hepatitlerde olağandışı serolojik ve moleküler tanı göstergesi kalıpları, s: 152-8. Tabak F, Balık İ, Tekeli E (ed), *Viral Hepatit Kitabı*. 2005, Viral Hepatitle Savaşım Derneği, İstanbul.
4. Pondé RA. The underlying mechanisms for the "simultaneous HBsAg and anti-HBs serological profile". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30(11): 1325-40.
5. Sayan M, Buğdacı MS. Nükleoz(t)id analogları tedavisi altında HBV aşı kaçacağı mutasyonları gelişen bir kronik hepatit B olgusu. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(3): 544-9.
6. Zoulim F, Locarnini S. Management of treatment failure in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2012; 56(Suppl 1):S112-22.
7. Locarnini SA, Yuen L. Molecular genesis of drug-resistant and vaccine-escape HBV mutants. *Antivir Ther* 2010; 15(3 Pt B): 451-61.
8. Kırdar S. Atipik serolojik profillere yaklaşım, s. 88-100. Altındış M, Tabak F (ed), *Hepatit Mikrobiyolojisi*. 2015, İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul.
9. Sayan M, Sentürk O, Akhan SÇ, Hülagü S, Cekmen MB. Monitoring of hepatitis B virus surface antigen escape mutations and concomitantly nucleos(t)ide analog resistance mutations in Turkish patients with chronic hepatitis B. *Int J Infect Dis* 2010; 14(Suppl 3): e136-41.
10. Avellon A, Echevarria JM. Frequency of hepatitis B virus 'a' determinant variants in unselected Spanish chronic carriers. *J Med Virol* 2006; 78(1): 24-36.
11. Gündücuoğlu H, Bozkurt H, Yaman G, Kutluay N, Berktaş M. Değişik serolojik belirleyicilere sahip hastalarda HBV-DNA'nın değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Derg* 2005; 10(3):158-63.
12. Pondé RA. Atypical serological profiles in hepatitis B virus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32(4): 461-76.
13. Huang X, Qin Y, Zhang P, et al. PreS deletion mutations of hepatitis B virus in chronically infected patients with simultaneous seropositivity for hepatitis-B surface antigen and anti-HBs antibodies. *J Med Virol* 2010; 82(1): 23-31.
14. Lada O, Benhamou Y, Poynard T, Thibault V. Coexistence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and anti-HBs antibodies in chronic hepatitis B virus carriers: influence of "a" determinant variants. *J Virol* 2006; 80(6): 2968-79.
15. Ding F, Yu HG, Li YX, Cui N, Dai JF, Yu JP. Sequence analysis of the HBV S protein in Chinese patients with coexisting HBsAg and anti-HBs antibodies. *J Med Virol* 2015; 87(12): 2067-73.
16. Afyon M, Artuk C. Hepatit B virüs enfeksiyonunda atipik serolojik profiller. *TAF Prev Med Bull* 2016; 15(3): 267-71.
17. Zhang JM, Xu Y, Wang XY, et al. Coexistence of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and heterologous subtype-specific antibodies to HBsAg among patients with chronic hepatitis B virus infection. *Clin Infect Dis* 2007; 44(9): 1161-9.
18. Hayashi J, Noguchi A, Nakashima K, Morofuji M, Kashiwagi S. Frequency of concurrence of hepatitis B surface antigen and antibody in a large number of carriers in Okinawa, Japan. *Gastroenterol Jpn* 1990; 25(5): 593-7.
19. Colson P, Borentain P, Motte A, et al. Clinical and virological significance of the co-existence of HBsAg and anti-HBs antibodies in hepatitis B chronic carriers. *Virology* 2007; 367(1): 30-40.



20. Jang JS, Kim HS, Kim HJ, et al. Association of concurrent hepatitis B surface antigen and antibody to hepatitis B surface antigen with hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 2009; 81(9): 1531-8.
21. Seo SI, Choi HS, Choi BY, Kim HS, Kim HY, Jang MK. Coexistence of hepatitis B surface antigen and antibody to hepatitis B surface may increase the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus infection: a retrospective cohort study. *J Med Virol* 2014; 86(1): 124-30.
22. Wang J, Zhou B, Lai Q, et al. Clinical and virological characteristics of chronic hepatitis B with concurrent hepatitis B E antigen and antibody detection. *J Viral Hepat* 2011; 18(9): 646-52.
23. Külâh C, Cömert F, Özlü N, Erođlu Ö, Tekin İÖ. Hepatit B virus (HBV) enfeksiyonunda serolojik belirteçler, transaminaz düzeyleri ve HBV-DNA'nın birlikte değeriendirilmesi. *Viral Hepatit Derg* 2007; 12(3): 111-5.
24. Turgut H, Kaleli İ, Saçar S, Toprak S, Yalçın AN. HBeAg negatif kronik hepatit B olgularında seroloji ve klinik önemi. *Viral Hepatit Derg* 2004; 9(1): 24-7.
25. Koçođlu E, Taş T, Mengelođlu FZ, Karabörk Ş, Ceylan K. HBV-DNA düzeyleri ile HBV serolojik göstergeleri arasındaki ilişkinin araştırılması. *Viral Hepatit Derg* 2013; 19(2): 54-7.
26. Arslan U, Tuncer İ, Fındık D, Ural O. HBeAg negatif, anti-HBe pozitif kronik hepatit B olgularında prekor/kor bölge mutasyonlarının ve genotip dağılımlarının değeriendirilmesi. *İnfeksiyon Derg* 2008; 22(3): 123-9.
27. Özbilge H, Zeyrek FY, Uzala Mızraklı A, Tümkiye B. HBV-DNA pozitifliği ve serolojik testler. *Erciyes Tıp Derg* 2005; 27(1): 17-21.
28. Sağlık İ, Mutlu D, Öngüt G ve ark. Kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda HBsAg ve HBeAg değerielerinin HBV-DNA ve alanin aminotransferaz düzeyleri ile karşılaştırılması. *Viral Hepatit Derg* 2013; 19(3): 119-22.
29. Kaya S, Yöner Ö, Özdemir L, Sümer Z. HBV-DNA miktarları ile serum alanin aminotransferaz düzeyleri ve HBV serolojik göstergeleri arasındaki ilişi. *İnönü Üniv Tıp Fak Derg* 2006; 13(1): 21-4.