

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HEPATİT C VİRÜS ENFEKSİYONLARININ TANI VE
TEDAVİ İZLEMİNDE, HCV KOR ANTİJEN
DÜZEYLERİNİN HCV RNA DÜZEYLERİ İLE
KORELASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Türkan ERSEN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2019

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HEPATİT C VİRÜS ENFEKSİYONLARININ TANI VE
TEDAVİ İZLEMİNDE, HCV KOR ANTİJEN
DÜZEYLERİNİN HCV RNA DÜZEYLERİ İLE
KORELASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Türkan ERSEN

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Tercan US

ESKİŞEHİR

2019

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Türkan ERŞEN' e ait "Hepatit C Virüs enfeksiyonlarının tanı ve tedavi izleminde, HCV Kor antijen düzeylerinin HCV RNA düzeyleri ile korelasyonunun değerlendirilmesi" adlı araştırma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı' nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Tercan US	Tarih: 03.10.2019. İmza
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Gül DURMAZ	İmza
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Üye	Prof. Dr. Duygu PERÇİN RENDERS	İmza
	Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu' nun
...../...../ 2019 Tarih ve/..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Aslantaş

Dekan

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında ve uzmanlık eğitimim süresince büyük emeği geçen, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, her konuda desteğini yanımda hissettiğim, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli tez hocam Prof. Dr. Tercan US'a, eğitimim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Gül DURMAZ'a, Prof. Dr. Nihal DOĞAN'a, Prof. Dr. Yasemin ÖZ'e, Prof. Dr. Nilgün KAŞİFOĞLU'na; başta Dr. Müge ASLAN ve Dr. Şükran ÖNDER olmak üzere bütün çalışma arkadaşlarım ve laboratuvar çalışanlarına; ayrıca tezimin istatistiklerinin hazırlanmasında bana yardımcı olan Dr. Muzaffer BİLGİN'e yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

Erşen, T. Hepatit C Virüs Enfeksiyonlarının Tanı ve Tedavi İzleminde, HCV Kor Antijen Düzeylerinin HCV RNA Düzeyleri ile Korelasyonunun Değerlendirilmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2019. Hepatit C virüsü enfeksiyonları (HCV) tüm dünyada yüksek kronikleşme riski, henüz aşılama ile korunulması mümkün olmaması ve hepatoselüler karsinom gibi ciddi komplikasyonları nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmada HCV kor antijen testinin tanı ve tedavi takibinde HCV RNA ile korelasyonu değerlendirildi, rutin kullanımda alternatif bir test olma durumu tartışıldı. Çalışmamızın ilk basamağında Aralık 2016-Aralık 2018 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Moleküler laboratuvarında, HCV ön tanılı hastalardan alınan, rutin olarak Anti-HCV ve HCV-RNA testi çalışılmış 600 serum örneğinde, HCV kor antijen testi çalışıldı. İkinci basamakta ise bu zaman dilimi içerisinde Gastroenteroloji bölümü tarafından tedavisine karar verilen 150 hastanın tedaviye başlamadan önce, 8. haftada ve tedavi bitiminde alınan serum örneklerinde rutin olarak çalışılan HCV-RNA testine ilave olarak HCV kor antijen testi çalışıldı. Tedavi takibi sürecinde iki testin korelasyonu değerlendirildi. Toplam 600 hastanın 49' una test sonuçlarına göre tanı konuldu. Bunlardan 28 hastada, rutin çalışılan HCV RNA ve Anti HCV'nin yanı sıra HCV kor antijeni pozitif bulundu. HCV kor antijen testinin duyarlılığı %91.49, özgüllüğü %100, PPD %100, NPD %97.30, doğruluk oranı ise %87.76 olarak tespit edildi. HCV RNA ve HCV kor antijeni sonuçları arasında yüksek düzeyde korelasyon saptandı. Çalışmanın ikinci basamağında ise HCV kor antijen testinin duyarlılığı (%96.52), özgüllüğü (%95.28), PPD (%95.11), NPD (%95.80) ve doğruluğu (%92.58) hesaplandı. Bu sonuçlar iki test arasında yüksek oranda korelasyonun olduğunu, tanı ve tedavi takibi sırasında kolay uygulanabilir ve maliyet etkin bir test olması nedeniyle HCV RNA testine alternatif bir test olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Anti-HCV, HCV, HCV RNA, kor antijen.

Bu çalışma ESOĞÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2017-1880 proje numarası ile desteklemiştir.

ABSTRACT

Ersen, T. Evaluation Of Correlation Hcv Cor Antigen Levels With Hcv Rna Levels In Diagnosis And Treatment Of Hepatitis C Virus Infections. Eskisehir Osmangazi University School of Medicine, Department of Clinical Microbiology, Eskisehir, 2019. Hepatitis C virus (HCV) infections are an important public health issue across the world because of the high risk of chronicity potential, impossibility of protection by vaccination and serious complications such as hepatocellular carcinoma. In this study, the correlation of HCV core antigen test with HCV RNA in the diagnosis and treatment follow-up was evaluated and the status of being an alternative test in routine use was discussed. In the first step of our study, between December 2016 and December 2018, HCV core antigen test was studied in 600 serum samples taken from patients with HCV prediagnosis routinely tested in Anti-HCV and HCV-RNA tests in Molecular Laboratory of Medical Microbiology Department. In the second step, the HCV core antigen test was studied in addition to the routine HCV-RNA test performed in the serum samples taken before, 8 weeks and at the end of the treatment of 150 patients who were decided to be treated by the Gastroenterology Department between the dates indicated. The correlation between the two tests was evaluated during the treatment follow-up. 49 of 600 patients were diagnosed according to test results. In 28 patients, HCV core antigen was positive in addition to HCV RNA and Anti HCV which were routinely studied. The sensitivity of HCV core antigen test was 91.49%, specificity was 100%, PPD was 100%, NPD was 97.30%, accuracy was 87.76%. There was a high correlation between HCV RNA and HCV core antigen results. In the second step of the study, sensitivity (96.52%), specificity (95.28%), PPD (95.11%), NPD (95.80%) and accuracy (92.58%) of the HCV core antigen test were calculated. These results show that there is a high correlation between the two tests and can be used as an alternative test to HCV RNA test because it is an easily applicable and cost effective test during diagnosis and treatment follow-up.

Key Words: Anti-HCV, HCV, HCV RNA, core antigen.

This study was supported by ESOGU Scientific Research Projects Coordination Unit with project number 2017-1880.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Virüs Yapısı ve Genel Özellikleri	3
2.3. Tutunma ve Hücreye Giriş	5
2.4. Protein Translasyonu	6
2.5. Replikasyon	7
2.6. Patogenez	7
2.7. Doğal Bağışıklık	8
2.8. Epidemiyoloji	9
2.9. HCV Genotipleri	11
2.10. Klinik	12
2.10.1. Akut Hepatit	12
2.10.2. Kronik Hepatit	14
2.10.3. Hepatoselüler Karsinom	15

2.11. Mikrobiyolojik Laboratuvar Tanı Yöntemleri	16
2.11.1. Hücre kültürü	16
2.11.2. İndirekt ve Direkt Serolojik Testler	16
2.11.3. HCV Genotipleme Testleri	25
2.12. HCV Aşısı	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. HCV Kor Antijeninin Saptanması	28
3.1.1. Test Prosedürünün Temel Bilgileri	28
3.1.2. Çalışmaya Hazırlık	29
3.1.3. Çalışma Prosedürü	29
3.1.4. Sonuç Yorumlama	30
3.2. Kantitatif HCV RNA Testi	30
3.3. Anti-HCV Testi	31
3.4. İstatiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	

SİMGE VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	Alanin Transaminaz
CD8	Cluster of Differentiation 8
CD16	Cluster of Differentiation 16
CLDN1	Claudin 1
DAA	Direkt Etkili Antiviraller
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Ensyeme - linked immunosorbent assay
EIA	Ensyeme immun analysis
E1	Envelope
FDA	Food and Drug Administration
FKBP8	FK506 binding protein
HBV	Hepatit B virüs
HCV	Hepatit C virüs
HMG-KoA	Hidroksi metil glutaril
hnRNPA1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1
HSK	Hepatosellüler karsinom
HIV	Human Immun Deficiency Virus
LDR-R	Low-density Lipoprotein Receptor
IFN	Interferon
IU	International Unit

IL 12	Interlökin12
IRES	Internal Ribosom Entry Site
kDa	Kilodalton
NANBH	Non A, non B Hepatit
NTPaz	Nukleozit Trifosfataz
NK	Natural killer
NKT	Natural Killer T alt grup
NPD	Negatif Prediktif Değer
NS	Non structural
ORF	Open Reading Frame
PPD	Pozitif Prediktif Değer
PCR	Polymerase chain reaction
RNA	Ribonükleik Asid
RT-PCR	Revers Transcription Polymerase chain reaction
RLU	Relatif Light Units
SRCAP	Snf2-related CBP activator protein
SR-B1	Scavenger Receptor Class B Type
S/Co	Sample/Cut off
TNA	Transkripsyon aracılı amplifikasyon
VAP	Vesicle-Associated Protein
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. HCV genomunun yapısı	4
2.2. HCV spesifik hücresel girişi	6
2.3. HCV'nin global dağılımı	11
2.4. Akut HCV Enfeksiyon Serolojisi.	13
2.5. Kronik HCV Enfeksiyon Serolojisi	14
2.6. HCV'ye Maruziyetten Sonra Klinik Progresyon	15
2.7. Akut HCV Enfeksiyonunda Virolojik Ve Serolojik belirteçler	17
2.8. Kronik HCV Enfeksiyonunda Virolojik Ve Serolojik belirteçler	17
2.9. Antikor testlerinde farklı kuşaklar ve kullanılan antijenler	18
2.10. HCV Kor Antijen Testinin, Diğer Testlerle Uyumu	21
4.1. HCV kor antijen düzeyi ile HCV RNA düzeyi arasındaki ilişki	33
4.2. HCV kor antijen düzeyi ile HCV RNA düzeyi arasındaki ilişki	38

TABLolar

	Sayfa
2.1. HCV Genotiplerinin Coğrafi Bölgelere Göre Dağılımları.	12
2.2. Akut hepatit C’de test sonuçlarının yorumlanması	13
2.3. Farklı kuşak EIA testlerinde duyarlılık ve pozitif prediktif değerleri.	19
2.4. Plazma veya serum örneklerinde hepatit C virüs RNA'sını ölçmek için	23
2.5. HCV tanı testlerinin değerlendirilmesi	24
4.1. 600 hastada pozitiflik saptanan 49 hastanın test sonuçları	32
4.2. HCV kor antijeninin duyarlılığı, özgüllüğü, PPD, NPD ve doğruluğu	33
4.3. HCV Enfeksiyonlu 150 Hastada, Üç Farklı Zaman Diliminde Çalışılan Anti HCV, HCV RNA ve HCV Kor Antijen Test Sonuçları	35
4.4. HCV kor antijenin testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk yüzdeleri	37
4.5. HCV RNA viral yük pozitif 111 hastanın viral yük düzeyleri ile HCV kor antijen sonuçlarının karşılaştırılması	37

1.GİRİŞ

Rekombinant moleküler teknolojiadaki gelişmeler neticesinde, 1989'da Hepatit C virüsü adı verilen bir RNA virüsü saptanmıştır. Hepatit C virüs (HCV) *Flaviviridae* ailesine ait *Hepacivirüs* cinsinin tek üyesi olan hepatotrop bir virüsdür. Bu virüs öncelikle karaciğeri etkiler ve insanda kronik hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinom gibi ciddi hastalıklara neden olur. HCV, bu komplikasyonlar nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ünün HCV ile enfekte olduğu (1), Türkiye'de ise bu oranın yaklaşık 1-1.3 milyon civarında olduğu tahmin edilmektedir.

HCV, 30-60 nm çapında zarflı, küresel yapılı, pozitif polariteli tek iplikli bir RNA virüsüdür (2).

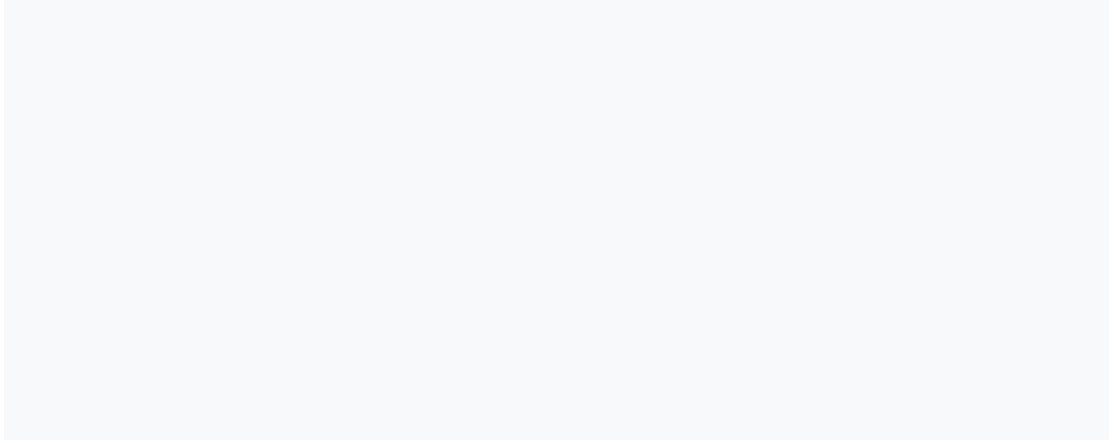
Önceleri HCV'nin en sık bulaş yolu virüsle enfekte kan ürünlerinin transfüzyonu olarak bildirilirken, donör kan tarama programları sayesinde, transfüzyon sonrası hepatit %80-90 oranında azalmıştır. İntravenöz ilaç ve madde kullanımı, kaza ile iğne batması, anneden bebeğe geçiş ve cinsel bulaş daha az oranda bulaş riskleri arasında yer almakta olup, son dönemlerde, iğne paylaşımıyla bulaş olguların %40'ını oluşturmaktadır (3).

HCV akut faz döneminde nadiren bulgu vermektedir. Klinik belirtiler HCV'ye maruziyetten 7-8 hafta sonra ortaya çıkmakta ama bu dönemde semptomlar spesifik olmadığı için bulaş riski artmaktadır (4).

HCV'nin tanısında, enzim immün analiz (EIA) prensibiyle çalışılan HCV antikor testi ucuz, kolay uygulanabilirliği ve otomatize olması nedeniyle tarama testi olarak rutinde kullanılmakla birlikte HCV antikor testi, yeni kazanılmış akut enfeksiyon ile kronik aktif enfeksiyonu ayırt etmede yetersizdir (5).

Anti-HCV sonuçlarını doğrulamak amacıyla immün blot analiz yöntemleri, nükleik asit test yöntemleri ve son olarak HCV kor antijenini (HCV Cag) saptamaya yönelik EIA yöntemleri geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, HCV kor antijen düzeyinin serum HCV RNA düzeyi ile korele olduğu ve bu nedenle HCV RNA'yı tespit eden moleküler yöntemlere alternatif olarak önerilmektedir (6).

Bu alışmada, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran HCV enfeksiyonu n tanılı hastalarda rutin olarak çalışılan Anti-HCV ve HCV RNA testlerinin yanı sıra son yıllarda kullanım alanı bulan Hepatit C virüs kor antijeni araştırılmıştır. HCV kor antijen testi, kantitatif ölçüm yapan, iki basamaklı kemilüminesans mikropartikül ELİSA yöntemiyle çalışılan bir testtir. Bu çalışmada hepatit C enfeksiyonlu hastaların tanı ve tedavilerinin takibinde altın standart tanı yöntemi olan HCV-RNA real-time PCR yöntemi ile HCV kor antijen testinin uyumu araştırılarak, moleküler testlere göre fiyatı daha uygun olan bu testin, rutin HCV enfeksiyonlarının kesin tanısında ve tedavilerinin monitorizasyonunda alternatif bir test olma durumu değerlendirilmiştir.



2.GENEL BİLGİLER

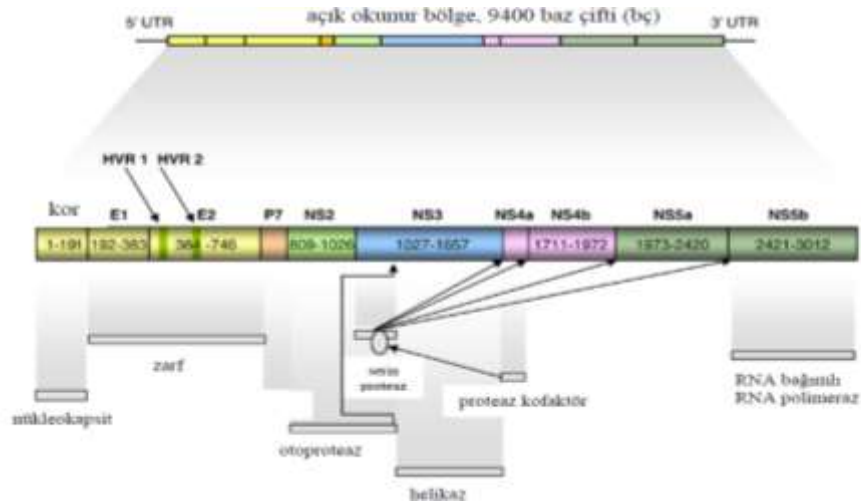
2.1. Tarihçe

1970'li yılların sonunda Hepatit A ve Hepatit B virüsleri için spesifik tanı testlerinin kullanıma girmesiyle birlikte, kan transfüzyonlarından sonra post-transfüzyonel hepatitlerin tamamen elimine edilmesi beklenirken durum böyle olmamış ve bu testlere rağmen hepatit olguları önemli oranda artmaya devam ederek bu olgular non-A, non-B hepatiti (NANBH) olarak adlandırılmıştır. Hepatit C virüsü, ilk kez 1989 yılında, NANBH'lı bir kişinin kanı ile enfekte edilen bir şempanzeden, viral RNA'nın izolasyonu ile tanımlanmıştır. Kandan izole edilen viral RNA, ters transkriptaz ile DNA'ya çevrilmiş ve daha sonra NANBH'lı kişilerden elde edilen antikolar, viral proteinleri saptamada kullanılmıştır (2).

Ülkemizde 1-1.3 milyon, dünya çapında ise yaklaşık 200 milyon bireyin bu virüs ile enfekte olduğu bilinmektedir (7). HCV ile ilişkili karaciğer hastalığı nedeniyle yılda yaklaşık 700.000 kişi hayatını kaybetmekte olup, virüs transplantasyon gerektiren karaciğer yetmezliğinin önde gelen nedenlerinden biridir (8). Ayrıca HCV hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde karaciğer hastalıklarının en önemli nedeni olarak kabul edilmektedir.

2.2. Virüs Yapısı ve Genel Özellikleri

Hepatit C virüs (HCV) *Flaviviridae* ailesine ait *Hepacivirus* cinsinde sınıflandırılan zarflı, küresel yapılı, pozitif polariteli tek iplikli bir hepatotrop özellikte RNA virüsüdür. HCV RNA, 9600 nükleotid uzunluğunda en az 10 proteini (üçü strüktürel, beşi non-strüktürel; viral RNA replikaz kompleksi) kodlayan bir genomdur (9). Genom 5' ve 3' uçlarından iyi korunmuş ve translasyona uğramayan dizilimlerle (UTR) çevrelenen yaklaşık 3000 amino asitlik bir poliproteini kodlayan açık okunur bölge (ORF) içerir (10).



Şekil 2.1. HCV genomunun yapısı (11)

Bu bölgeden yapısal ve yapısal olmayan 11 viral protein üretilir. Yapısal HCV proteinleri; kor (core: C), zarf 1 (envelope 1: E1), zarf 2 (E2) ve transmembran (p7) proteininden oluşur. Kor bölgesi günümüzde fonksiyonu bilinmeyen F proteinini de kodlar. Yapısal ve yapısal olmayan proteinleri kodlayan genler arasındaki bölge virüsün üretimi için gerekli olan integral katyon membran kanal protein p7'yi kodlar (12).

HCV'nin 6 yapısal olmayan (non structural-NS) proteini bulunmaktadır. Bunlar; NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A ve NS5B'dir. NS2 proteini 23 kDa büyüklüğünde hidrofobik bir transmembran proteindir ve sistein proteaz etkinliğine sahiptir. NS2'nin karboksi ucu ile NS3'ün amino ucu bir araya gelerek, NS2/NS3 birleşmesini kesen çinko bağımlı bir sistein proteaz oluşturur (2).

HCV'nin NS3 ve NS4A proteinleri RNA replikasyonunda önemli görevler üstlenir. NS3, hem serin proteaz hem RNA helikaz ve nükleozid trifosfat (NTPaz) aktivitesi olan multifonksiyonel bir proteindir. NS4A, NS3 fonksiyonları için esansiyel kofaktördür. NS3'ün hücrel membranlara tutturulmasını sağlar. Günümüzde NS4B proteini hakkında bilgi çok kısıtlıdır. Ancak HCV RNA'nın replikasyonunun gerçekleştiği bölge olduğu öne sürülen 'membranöz ağ' oluşumuna katkıda bulunur (13). Ağ oluşumu NS4B'nin amino ucundaki alfa-heliks yapısıyla ilişkili olduğu bilinmektedir.

NS5 tarafından kodlanan kısım, NS3 serin proteaz aktivitesi ile NS5A ve NS5B olmak üzere iki viral protein haline gelir. NS5A, IFN yanıtlarının modülasyonunda rol oynayan bir serin fosfo proteindir. Fosforile ve hiper fosforile olmak üzere iki tipi vardır. NS5A'nın HCV replikasyonu ve patogenezi ile ilişkili mekanizmalarda görevli olduğu bilinmektedir (14). Apoptoz baskılanması, hücre büyüme ve farklılaşmasının etkilenmesi, lipid metabolizmasının hasara uğratılması ve transkripsiyonun kontrolü ile konak hücrenin kontrolünün virüs etkisi altına girmesine aracılık etmekle, birlikte aynı zamanda hücresel proteinlerle etkileşime girerek konak hücrede sinyal ileti yollarının kontrolünü sağlamaktadır. Bir diğer görevi ise interferonlara karşı virüs direncinde rol alır. NS5B, HCV replikazın merkezi katalitik enzimi olan RNA bağımlı RNA polimerazı kodlar. NS5B, HCV poliproteininin karboksil ucunda bulunan en son proteindir (13) (12).

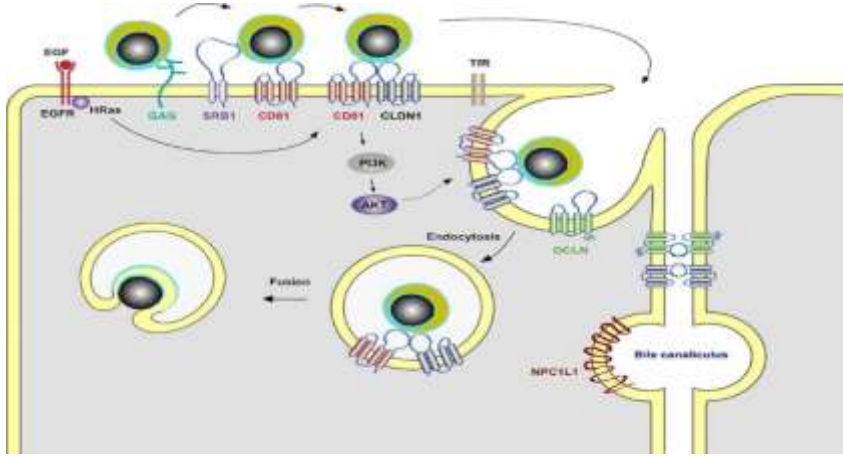
HCV nükleotid dizileri altı farklı genotip ve 80'den fazla subtip ayrılmaktadır (2). 1991'de Choo ve ark. (15) tüm HCV genomunu belirlemişlerdir. Tüm genomun dizi analizi, genotiplendirmede altın standart olmasına rağmen, bu işlem zahmetli ve pahalıdır. Bu nedenden dolayı, kor, E1 ve NS5 gibi protein kodlayan bölgelerden en az birinin dizi analizi yapılması önerilir. Virüsün 5'-UTR bölgesinin kullanıldığı genotipleme yöntemlerinin doğruluğu yüksektir. İkinci Uluslar Arası HCV ve İlişkili Virüsler Konferansı'nda HCV genotip ve alt tiplerinin ortak bir terminolojisi olması için fikir birliğine varılmıştır. Bu sınıflandırmada genotipler 1'den 6'ya kadar olan rakamlar ile bunların içinde bulunan subtipler ise sıraya göre harfler ile isimlendirilmiştir (16).

2.3. Tutunma ve Hücreye Giriş

HCV'nin vasküler endoteli geçtikten sonra hepatositlerin bazolateral yüzeyleri ile temas ettiği; daha sonra hücre yüzeylerindeki heparan sülfat glikozaminoglikanlar, C-lektinler veya düşük dansiteli lipoprotein reseptör (LDL-R) aracılığıyla hücre yüzeyinde yoğunlaştığı ve ardından viral reseptörler aracılığıyla hücreye girişi gerçekleştiği düşünülmektedir (17).

HCV zarf glikoproteinleri ile hücresel reseptörlerin etkileşimi HCV'nin klatrin-güdümlü endositoz ile hücre içine alınmasıyla sonuçlanır. Endozomun

asidifikasyonu sonucu füzyon peptidler açığa çıkar. Bu peptidlerin yardımıyla viral ve endozomal zarlar birleşir, kapsid soyulur ve genom sitozole salınır. Virüsün hücreden hücreye SR-BI, CLDN 1 ve OCLN aracılığıyla geçebildiği düşünülmektedir (18).



Şekil 2.2. HCV spesifik hücresel girişi

2.4. Protein Translasyonu

HCV genomunun 5' ucunda kep bulunmamaktadır ve translasyona kep bağımlı mekanizma olan AUG kodonu aracılık etmez. Bunun yerine virüsün 5-UTR bölgesinde bulunan IRES bölgesinin yönlendirmesiyle, ribozomun doğrudan translasyonun başlayacağı bölgede toplanması sağlanır. Ribozomun 40S alt ünitesi IRES bölgesine bağlanır ve translasyon için herhangi ek bir translasyon faktörüne ihtiyaç duymaz (19). 40S alt ünite IRES bölgesine bağlandıktan sonra bu yapıya 60S alt birimi bağlanarak 80S kompleksi oluşur ve protein translasyonu gerçekleşir. Translasyonla beraber öncelikle bir poliprotein molekülü sentezlenir, daha sonra viral ve hücresel proteinazlar ile ko- ve posttranslasyonel modifikasyonlar meydana gelir (20).

2.5. Replikasyon

HCV replikasyonu, membranöz ağ adı verilen hücre içi veziküler yapılarda gerçekleşir. Replikasyon sırasında HCV konak hücre sitoplazmik membranında değişikliklere yol açar. Hücre içi veziküler yapılar NS4 proteinine bağlıdır. Perinükleer membranlarla yakın temas içinde bulunan bu yapılarda, yapısal olmayan proteinler ve hücresel proteinler birikerek replikasyon proteinini oluşturur (21).

NS5A ile etkileşen hücresel proteinler arasında FK506 binding protein 8 (FKBP8), vesicle-associated protein (VAP), FBL2, Snf2-related CBP activator protein (SRCAP), karyoferin b3, Raf-kinaz; NS5B ile etkileşen siklofilin B, p68, nükleolin ve heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 (hnRNP A1) gibi hücresel faktörler sayılabilir (22).

HCV hücre içinde nötral lipidlerin depolandıkları damlacıklarla da etkileşime girer. HCV replikasyonunun gerçekleştiği endoplazmik retikulum membranlarında aynı zamanda çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) de bir araya geldiğini göstermektedir. Oluşan VLDL eksositozla hücre dışına salınır. HCV' ninde VLDL bağlanarak ya da VLDL'nin yapısına katılarak hücre dışına çıktığı düşünülmektedir. Bu da HCV'nin lipit metabolizması ile ilgili ilişkisini ortaya koymaktadır (23).

Yapılan çalışmalar, HCV'nin replikasyonunda kolesterol sentezinde rol oynayan mevolonat yolağında rolü olduğu kanıtlanmıştır. Lovastatin gibi ilaçlarla kolesterol sentezinde görev alan hidroksi-metil-glutaril-KoA (HMG-KoA) redüktaz inhibe edildiğinde HCV replikasyonunda inhibe olduğu tespit edilmiştir (24).

2.6. Patogenez

Viral protein ve RNA miktarı enfekte karaciğer dokularında çok düşüktür, bu da oldukça hassas fakat aynı zamanda daha az güvenilir tespit yöntemlerinin kullanılmasını gerektirir. Karaciğer hücrelerinin yanı sıra, HCV'nin periferik kan mononükleer hücrelerinde, hem in vivo hem de in vitro, çoğalabildiğine dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır. Böyle bir lenfotropizm, kronik hepatit C hastalarının %50 sinden fazlasında gözlenen, özellikle tip 1 ve tip 3 kriyoglobülemideki sayısız immünolojik bozukluğa neden olabilir (25).

İnsan CD81'i, doğrudan HCV E2 proteini ile bağlanabilen HCV hücre girişi için gerekli ilk alıcıdır. CD81, hepatositler, B-lenfositler, T-lenfositler ve doğal öldürücü hücreler dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde farklı moleküler komplekslere katılan, yaygın olarak dağıtılmış bir hücre yüzeyi proteindir. HCV'nin CD81'i sadece hepatositleri istila etmek için değil, aynı zamanda konakçı immün yanıtlarını modüle etmek için de kullandığı öne sürülmüştür (26). Revers transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu ile yapılan çalışmalarda, HCV-RNA'nın negatif ipliğinin lenf nodu ve pankreas, daha az sıklıkla olmak üzere de santral sinir sistemi, adrenal bezler, kemik iliği, tiroid dokusu ve dalakta saptanabildiği bildirilmiştir (27).

Bununla birlikte, HCV tarafından B hücresi lenfoproliferasyonunu indüklemek için kullanılan mekanizmalar şu ana kadar tamamen açıklığa kavuşturulmamıştır. Kronik antijen stimülasyonu, HCV-E2 proteini ile hücresele reseptörleri arasında yüksek afinite etkileşimi, B-hücrelerinin doğrudan HCV enfeksiyonu ve "hit and run" transformasyon olayları gibi farklı biyolojik mekanizmaların birlikteliği öne sürülmektedir (26).

2.7. Doğal Bağışıklık

Doğal bağışıklıkta görev alan reseptörler HCV'yi algılayarak antiviral yanıtları stimüle eder. Tip 1 interferonların salınımı ve interferon yanıt yollarının uyarılması bu yanıtlar arasında yer alır. NK ve NKT hücreleri doğal bağışık yanıtın elemanlarından (28). Periferik kanda yaklaşık %13 NK ve %4 NKT ulunmasına karşın, bu oranlar karaciğerde % 37 ve % 26'dır. NK hücreleri virüsle enfekte hücreleri öldürerek ve sitokin salgılayarak antiviral bağışıklığa katkı sağlar. HCV E2 proteini CD 16 ya da IL-12 yöneltimindeki NK hücre aktivasyonunu baskılar (25).

2.8. Epidemiyoloji

Dünyada, 185 milyondan fazla birey Hepatit C virüsü (HCV) ile enfektir. Yılda 3 - 4 milyon yeni olgu ve HCV'ye bağlı 500 bin ölüm bildirilmektedir. Genel popülasyonda HCV seroprevalansı; Dünyada %2.8, gelişmiş ülkelerde %1-2, ülkemizde %0,5-1'dir (29).

HCV hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde karaciğer hastalıklarının en önemli nedeni olarak kabul edilmektedir. Hepatit C enfeksiyonu, tüm dünyada kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinomun en önemli nedenlerinden birisidir (30).

Yapılan çalışmalarda virüsün geniş yayılımında birinci ve ikinci dünya savaşları sırasında güvenilir olmayan enjeksiyonların sorumlu olduğu düşünülmektedir. Geçen süreçte tek kullanımlık enjektörlerin kullanımıyla birlikte bu oran düşmüş, ancak bu sefer de güvenli olmayan kan transfüzyonlarına bağlı enfeksiyonlar öne çıkmıştır (31). 1990'lı yıllarda kan bankalarında transfüzyon kanlarının taranmaya başlanmasından sonra, kan transfüzyonu ve organ bağıışı ile olan bulaşma oranları azalmaya başlamıştır, ancak diğer yollarla bulaşma halen yaygınlığını korumaktadır (2). Günümüzde, gelişmiş ülkelerde şu an en fazla görülen bulaşma yolu, intravenöz uyuşturucu kullanımı olup, son dönemlerde, iğne paylaşımıyla bulaş olguların %40'ını oluşturmaktadır. Virüsün aynı zamanda tükürük, idrar ve semen gibi sıvılarda salınması, enfeksiyonun yakın temas ve cinsel ilişkiyle bulaşma riskini arttırmaktadır (32).

Yaşa göre HCV'nin dağılımı, üç ana paternde yayılım göstermektedir. İlk paternde; enfeksiyon saptama yaşı, 30-49 yaş grubu olup, bu grupta primer risk faktörü olarak damar içi uyuşturucu madde kullanımı ön plana çıkmaktadır. İkinci patern: yaşlı grup, enfeksiyon sıklığı yaşam süresinin uzamasıyla doğrusal olarak artmaktadır. Üçüncü patern ise her yaş grubunda görülebilmekte ve enfeksiyon bulaşındaki risk faktörleri, kontamine enjektör iğnesi batması ve diğer araç gereçlerin kontaminasyonları olarak bildirilmektedir (33).

HCV prevelansının coğrafik dağılımı, o bölgenin gelişmişlik düzeyine göre değişkenlik göstermektedir. Afrika ve Asya'da yüksek oranda bulunurken, bu oran

Kuzey Amerika, Kuzey ve Batı Avrupa ve Avustralya gibi sanayileşmiş ülkelerde düşüktür (31).

En düşük prevalans İngiltere ve İskandinav ülkelerinden (%1'in altında), en yüksek prevalans ise Mısır başta olmak üzere Ortadoğu'dan (%15-20) bildirilmiştir. En yüksek HCV prevalansının görüldüğü Mısır'da prevalans yaşla birlikte artar, ancak bütün yaş gruplarında yüksektir. Bu patern, bölgeler arasında genel ortalama prevalans değerleri arasında farklılıklar görülebilmemesine karşın, uzak geçmişteki yüksek HCV riskinin halen devam ettiğini gösterir (34).

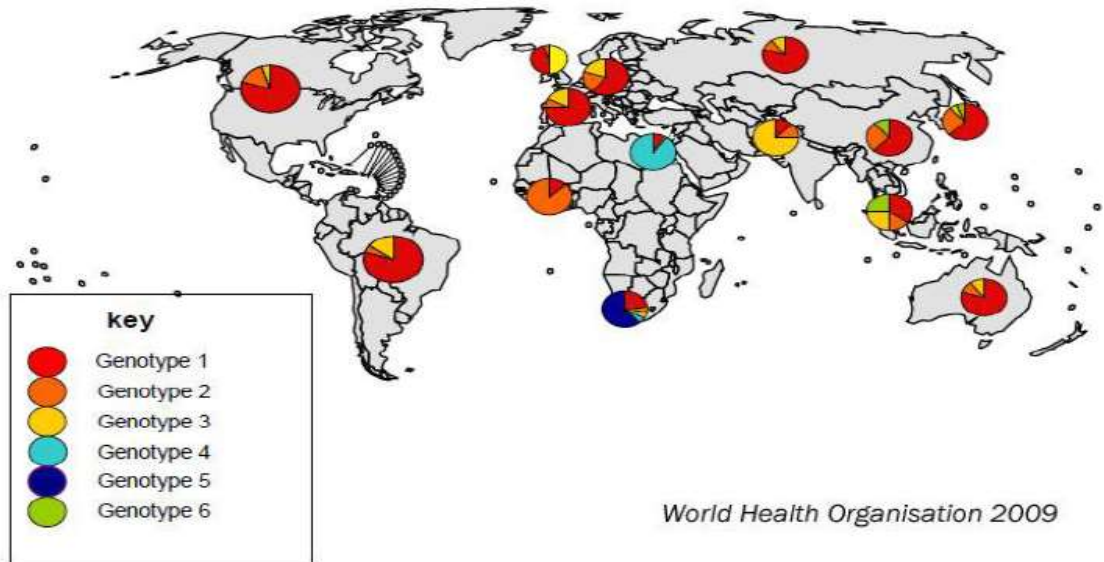
Türkiye, İspanya, İtalya, Japonya ve Çin gibi ülkelerde ise yaşa özgü prevalans yaş ilerledikçe artmaktadır. Bu ülkeler ve Türkiye'de anti-HCV-pozitif olanların büyük kısmı 50 yaşın üzerindedir ve bu da 40-60 yıl önce HCV enfeksiyon riskinin yüksek olduğunu göstermektedir (35)

Türkiye'de yaşa özgü prevalansın incelendiği çalışmalarda özellikle 50 yaşından sonra prevalansın arttığı izlenmektedir. Us ve Ark. (36) Eskişehir Osmangazi üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde 203 hastayla yaptığı bir çalışmada, hastaların yaş ortalamasının 54.97 olarak bildirmiş. Karadeniz Bölgesi'nde yapılmış bir çalışmada 1095 sağlıklı kişi anti-HCV pozitifliği yönünden incelenmiştir. Bu çalışmada yaşa özgü prevalansın 40'lı yaşlardan sonra artmaya başladığı 50-59 yaş grubunda %4.2, 60-69 yaş grubunda %3.4 ve 70-79 yaş grubunda ise %7.1 ile en yüksek değere çıktığı belirlenmiştir (37). Kronik hepatit C hastalarının değerlendirildiği İstanbul'dan bir çalışmada hastaların en çok 50-59 yaş grubunda yığılma gösterdikleri ayrıca kronik hepatit, siroz, HSK gibi komplikasyonların da en sık bu yaş grubunda görüldüğü bildirilmiştir. İzmir'de preoperatif dönemde olan 614 hastanın kanları incelenmiş, bu araştırma sonucunda anti-HCV seropozitiflik %1.93 olarak bildirilmiştir (38). Sağlıklı nüfusta HCV enfeksiyonu seroprevalansı %2.2 civarında olup, hemodiyaliz tedavisi alan hastalarda bu oran %4-70 e kadar yükselmektedir (39).

2.9. HCV Genotipleri

HCV'nin altı major genotipi ve 80 civarında alt tipi mevcuttur. Genotiplerdeki bu farklılıklar enfeksiyonun seyrini belirler aynı zamanda tedavinin planlanması ve tedaviye yanıtın öngörülmesi yönünde yol göstericidir (40).

Bu sebepten dolayı HCV enfeksiyonunun tedavisi ve takibinde HCV RNA viral yük değerlerinin belirlenmesi ile birlikte genotip tayini önem kazanmıştır. Örneğin, HCV genotip 1 ve 4'ün genotip 2 ve 3'e göre pegile interferon ve ribavirin tedavisine daha dirençli olması, tedavi süresini ve dozunu değiştireceğinden tedaviye başlamadan önce mutlaka genotip tayininin yapılması gerekir (41).



Şekil 2.3. HCV'nin global dağılımı

Dünya'da birçok genotip görülmekle birlikte en sık görülen tip genotip 1'dir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ve Avrupa'da tip 1, Mısır ve Ortadoğu'da genotip 4, Güney Afrika'da genotip 5, Kuzey Amerika, Avrupa ve Japonya'da genotip 2 ve 3, Güney Doğu Asya ülkelerinde genotip 6 daha sık görülmektedir (37).

Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda ağırlıklı olarak genotip 1b'nin gözlendiği belirlenmiştir (42).

Tablo 2.1. HCV Genotiplerinin Coğrafi Bölgelere Göre Dağılımları.

Bölge	Genotip
Kuzey Amerika ve Afrika	1a, 2a-2b
Japonya	1b, 2a-2b
Güney ve Doğu Avrupa	1b
Güney Doğu Asya	3
Orta Doğu, Mısır ve Orta Amerika	4
Güney Afrika	5
Hong Kong ve Vietnam	6
Türkiye	1b

HCV genotip 1b'de hepatosellüler karsinoma gelişme riski yüksek ve interferon tedavisine yanıt diğer genotiplere göre daha düşüktür (43).

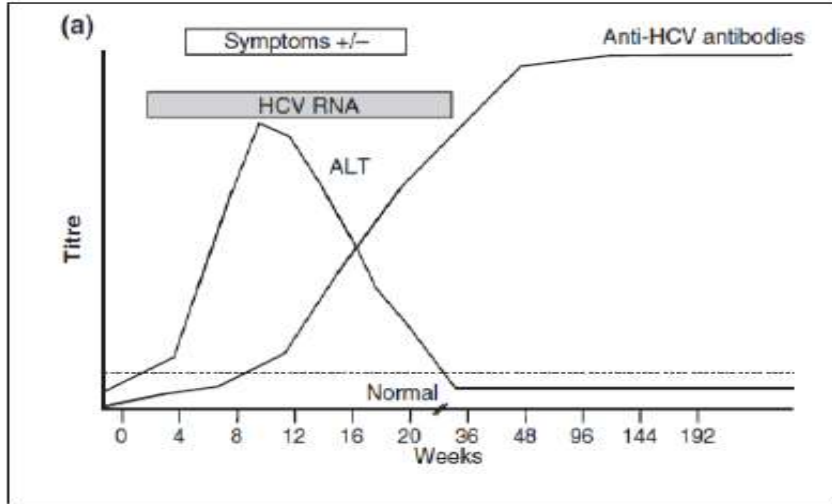
2.10. Klinik

2.10.1. Akut Hepatit

HCV küresel boyutta önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), dünya nüfusunun %3 kadarının virüsle enfekte olduğunu, dünya genelinde 170 milyondan fazla HCV taşıyıcısı anlamına geldiğini, tahmin etmektedir (44).

HCV enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir; bununla birlikte, HCV'ye maruz kalan bireylerin büyük çoğunluğu (>%85) sürekli olarak enfekte olur ve bunların %30'unda kalıcı kronik enfeksiyon ve kronik hepatit, siroz ve hepatosellüler karsinom dahil olmak üzere ilerleyici karaciğer hastalığı gelişir (HSK) (45).

HCV enfeksiyonu, akut enfeksiyon fazı sırasında nadiren teşhis edilir. Klinik bulgular, genellikle HCV'ye maruz kaldıktan 7-8 hafta sonra ortaya çıkabilir, fakat kişilerin çoğunda semptomlar yoktur veya sadece hafif semptomları vardır. Akut hepatit semptomları, genellikle sarılık, kırıklık, idrarda koyulaşma ve bulantıdan oluşur. Enfeksiyon çoğu durumda kronik hale gelir ve kronik enfeksiyon tipik olarak semptomun olmadığı uzun bir süre ile karakterizedir (46).



Şekil 2.4. Akut HCV Enfeksiyon Serolojisi.

Akut hepatit C şüphesi olan hastalarda anti-HCV ve HCV RNA test sonuçlarının değerlendirilmesi Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Akut hepatit C’de test sonuçlarının yorumlanması

Anti-HCV	HCV RNA	Yorum
Negatif	Negatif	Akut HCV yok
Negatif	Pozitif	Akut HCV var
Pozitif	Negatif	Akut HCV yok
Pozitif	Pozitif	Kronik hepatitten ayırımı zordur

Anti HCV pozitif HCV RNA negatif olan durumlarda hasta muhtemelen iyileşmiştir ve bu durumlarda ileri testlerin yapılması gerekir.

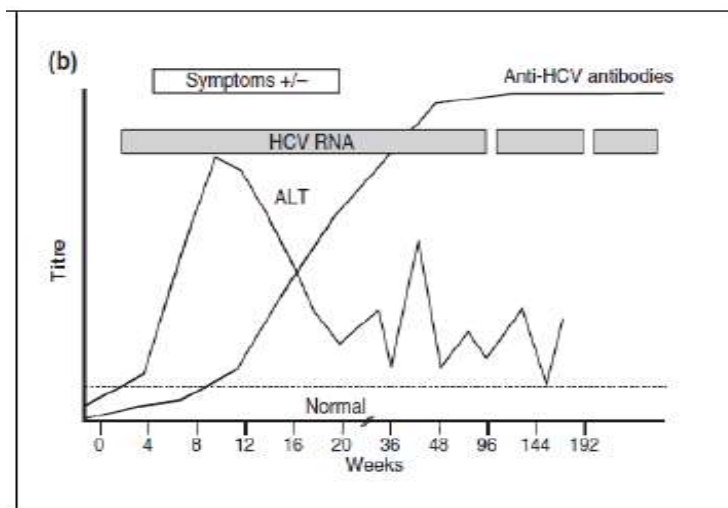
Anti HCV ve HCV RNA pozitif olduğu durumlarda akut hepatiti kronik hepatitin akut alevlenmesinden veya kronik hepatitli hastaların başka nedenli akut hepatitten ayırmak zordur.

2.10.2. Kronik Hepatit

HCV enfeksiyonlarında kronikleşme, diğer viral hepatitlerin aksine, yaş ilerledikçe artar. HCV, kronik hepatit ve fibrozis, ve bunun sonucunda siroz ve hepatosellüler karsinomaya (HSK) neden olan karaciğer hastalıklarının başta gelen sebebidir. Hastalığın son dönem karaciğer hastalığına doğru ilerleyen bir progresyonu vardır. HCV genelde kronik enfeksiyon ile sonuçlanır ve kronik enfeksiyonu olan hastaların %30'unda kronik karaciğer hastalığı gelişir. Kronik enfeksiyonda HCV ile kronik enfekte olan hastalarda 5 yılda HSK gelişme riski %5'dir (47).

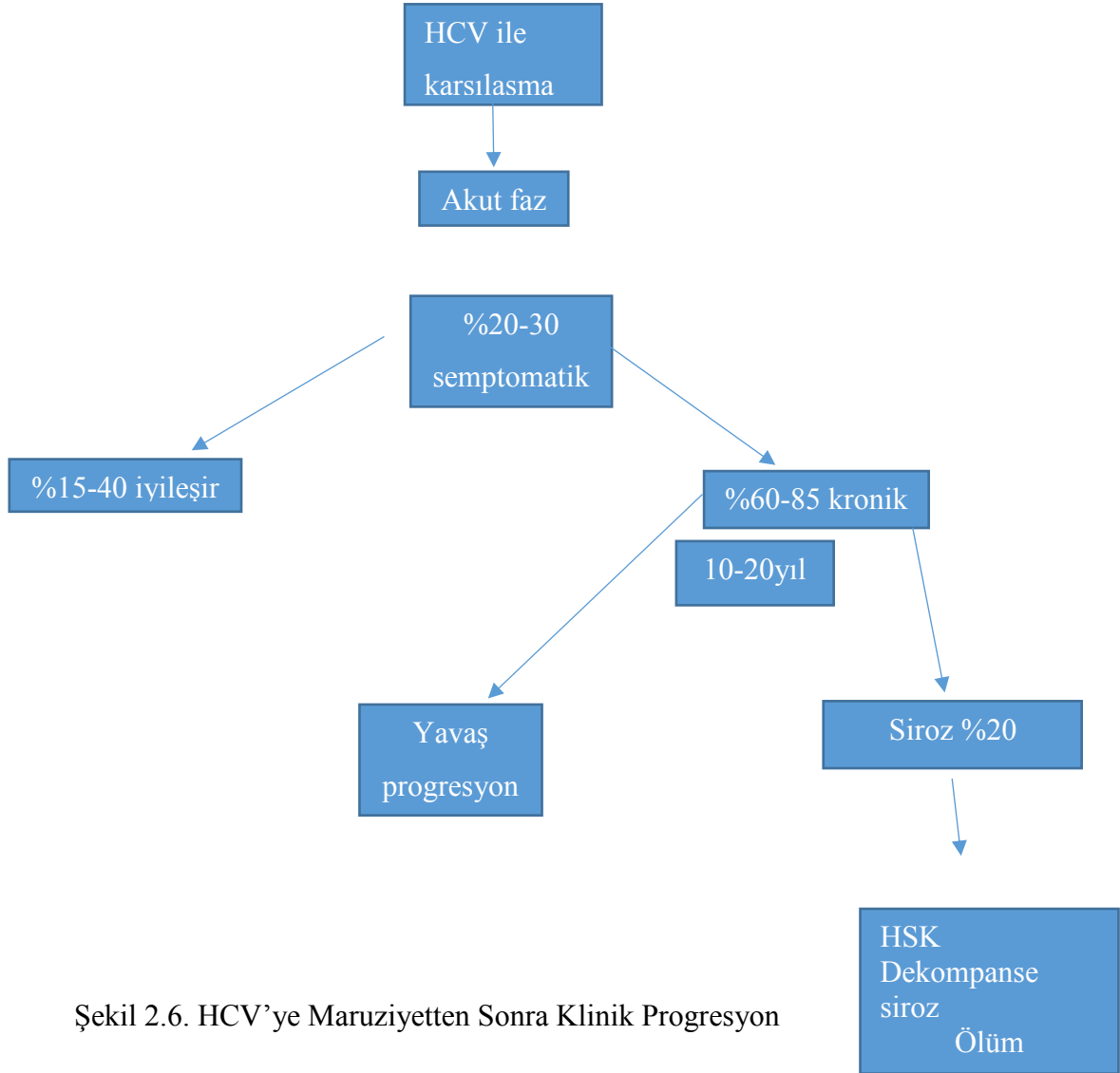
Progresyonu etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Cinsiyet (erkeklerde daha ağır), yaş, alkol, obezite ve HCV'nin HBV ve HIV ile olan ko-enfeksiyonu en önemlileridir. Yapılan birçok çalışmada karaciğerde var olan steatozis ile kronik HCV enfeksiyonu arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (48).

Prospektif çalışmalarda hastaların %60-90'ında ALT anormallikleri gözlenirken, taşıyıcı durumda olan %10-40 hasta grubunda ise ALT seviyelerinin normal seviyelerde olduğu gösterilmekle birlikte HCV'li hastalarda, normal ALT düzeyleri her zaman hastalığın iyi seyirli olduğunu gösteren bir parametre değildir (49).



Şekil 2.5. Kronik HCV Enfeksiyon Serolojisi

HCV'yle karşılaşma sonrası klinik progresyon aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (49)



Şekil 2.6. HCV'ye Maruziyetten Sonra Klinik Progresyon

2.10.3. Hepatoselüler Karsinom

HCV enfeksiyonunun kronikleşmesiyle beraber ortaya çıkan enflamasyon, nekroz, rejenerasyon ve siroz, onkogenesis gelişiminde risk oluşturmaktadır. HCV'nin hem yapısal hem de yapısal olmayan proteinleri HSK ile ilgili olduğu belirlenmiştir (50). Bunlardan en çok kor ve NS5A proteinlerinin etkileri öne çıkmaktadır. Kor proteinlerinin oluşmasına aracı olan oksijen ara ürünleri karaciğerde DNA hasarına yol açarak karsinogenezise neden olduğu

düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, kor proteini apoptozisi düzenleyen tümör süpresör proteindir (51).

NS5A proteini apoptoz, oksidatif stres ve lipid metabolizması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. NS5A'nın birçok yollarla etkileşerek hücre çoğalmasını ve apoptozu inhibe edebildiği gösterilmiştir (52).

2.11. Mikrobiyolojik Laboratuvar Tanı Yöntemleri

2.11.1. Hücre kültürü

Tarihsel olarak, HCV'yi üretebilen bir hücre kültür sisteminin olmayışı, HCV araştırması alanındaki ilerlemeyi engellemiş, aşı çalışmalarını kısıtlayan faktörlerin nedenini oluşturmuştur.

2003 yılında Wakida ve arkadaşları, Japonyada, bir fulminan hepatit hastasından klonlanmış olan HCV JFH-1 suşu kullanarak, HCV hücre kültürü sistemi geliştirmiştir (53).

HCV hücre kültürü sistemlerinin kurulması, doğrudan etkili antivirallerin (DAA'lar) geliştirilmesini kolaylaştırmıştır. En son IFN içermeyen DAA tedavisinin, hastaların %95'inden fazlasında HCV'yi ortadan kaldırdığı ve daha az yan etkisi olduğu ve IFN bazlı tedaviler ile karşılaştırıldığında daha kısa bir tedavi süresi olduğu bildirilmektedir (54).

2.11.2. İndirekt ve Direkt Serolojik Testler

Hepatit C virüsü enfeksiyonunun laboratuvar tanısı ve izlenmesinde, HCV'ye spesifik antikörlerin saptandığı indirekt serolojik testler ile nükleik asit saptamaya yönelik HCV RNA ve kor antijenini gösteren direkt testler uygulanır (55).

A) Kullanım amacına göre;

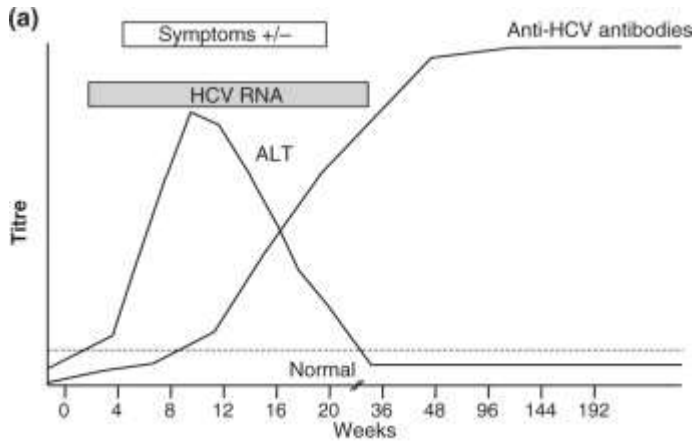
- ♣ Tarama testleri: Enzim immün test (EIA) tabanlı Anti-HCV testleri
- ♣ Tamamlayıcı (supplemental) testler: Strip immünblot testler
- ♣ Konfirmasyon testleri: HCV RNA

B) Tanımlama (İdentifikasyon) yöntemlerine göre;

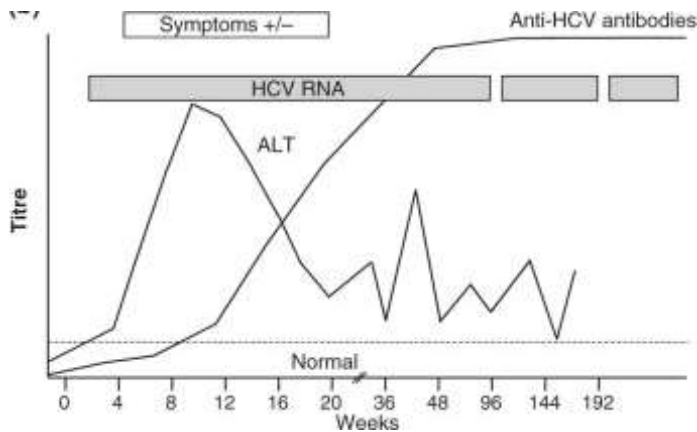
- ♣ İndirek testler: Anti-HCV ve Strip immunblot testler
- ♣ Direkt testler: HCV RNA, HCV kor antijen, HCV genotipleme testleri ve HCV genomu sekanslama testleri (56).

Anti HCV tanı testleri

Anti-HCV antikorları, akut enfeksiyon fazından ortalama 2-8 hafta sonra ortaya çıkar ve kronik HCV enfeksiyonu gelişen hastalarda yaşam boyu devam eder. Anti-HCV antikorlarının yokluğunda saptanabilir HCV RNA ve kor antijen ile karakterize edilen serolojik pencerenin ortalama olarak yaklaşık 60 gün olduğu tahmin edilmektedir (57).

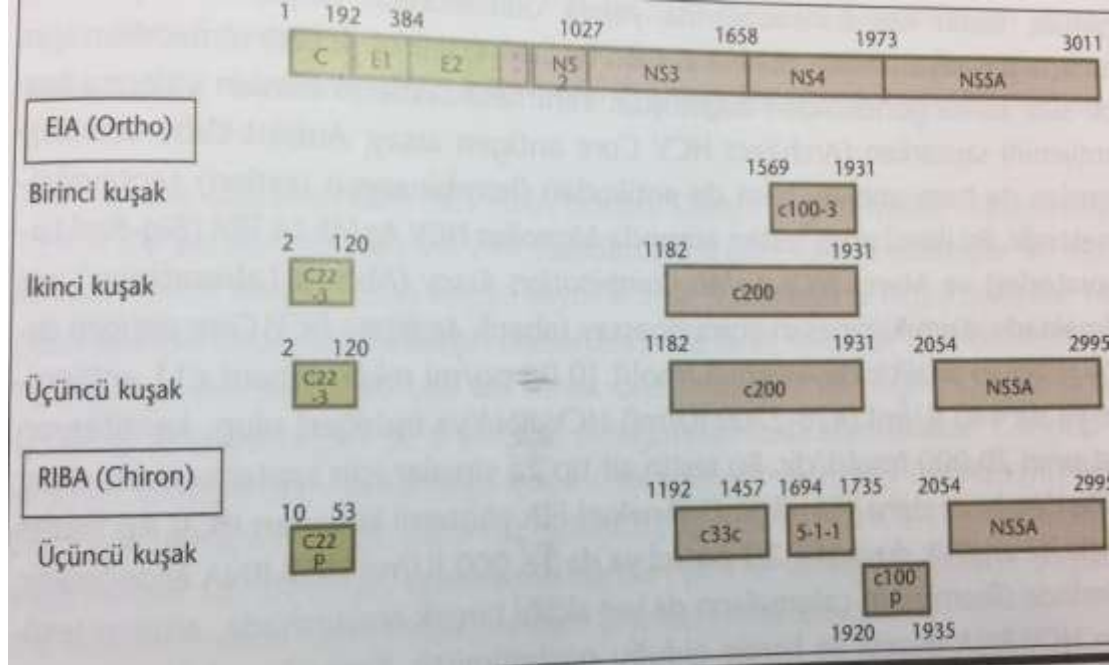


Şekil 2.7. Akut HCV Enfeksiyonunda Virolojik Ve Serolojik belirteçler



Şekil 2.8. Kronik HCV Enfeksiyonunda Virolojik Ve Serolojik belirteçler

Vücut sıvılarında spesifik antikorların tespiti ve miktarının belirlenmesi, enzim immünolojik testlerinin kullanımına dayanır (58).



Şekil 2.9. Antikor testlerinde farklı kuşaklar ve kullanılan antijenler (58)

Üç farklı kuşak Anti- HCV antikor testi geliştirilmiştir. **Birinci kuşak HCV EIA'ler** sadece yapısal olmayan NS4 proteininin epitopu olan c100-3'ü kullanır. Birinci nesil anti-HCV reaktifleri diğerlerine kıyasla zayıf duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir (59).

İkinci kuşak HCV EIA'de ise NS3 (c33c) bölgesi, kor (c22-3) bölgesi (yapısal) ve NS4 proteininin c100-3 epitopunun bir kısmı kullanılmıştır. Bu test 1992 yılında FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır. İkinci kuşak Anti- HCV reaktiflerinin birinci kuşağa göre özgüllüğü ve duyarlılığı yüksektir. Bunun yanı sıra oluşan HCV antikorları 30 ile 90 gün daha önceden tespit edebilmekte ve birinci nesilde 16 hafta olan pencere dönemini 10 haftaya düşürmüştür (60).

Üçüncü kuşak HCV EIA'de kitlerine ek olarak NS5 proteini eklenmiştir. Üçüncü kuşak testler HCV antikorlarını ikinci nesile göre yaklaşık 26 gün daha

erken tespit edebilmektedir. Bu üç farklı nesil kitin duyarlılığı, pozitif prediktif değerleri tabloda verilmiştir (61).

Tablo 2.3. Farklı kuşak EIA testlerinde duyarlılık ve pozitif prediktif değerleri.

Test	Duyarlılık %	PPD (Düşük prevalanslı grup)	PPD (Yüksek prevalanslı grup)
1. Kuşak EIA	70-80	30-50	70-85
2. Kuşak EIA	92-95	50-61	88-95
3. Kuşak EIA	97	25	-

NS3'e ve kor antijene karşı antikorlar, genellikle NS4 ve NS5'e karşı antikorlardan birkaç hafta önce ortaya çıkar. Anti-NS3'ün hemen hemen her zaman saptanabilir olmasına rağmen, özellikle kendi kendini sınırlayan ya da asemptomatik enfeksiyonlar durumunda, başlangıçta bulunamayabilir ve vakaların üçte birinde kronik evreye kadar ortaya çıkmaz (62).

HCV kor antijen testi

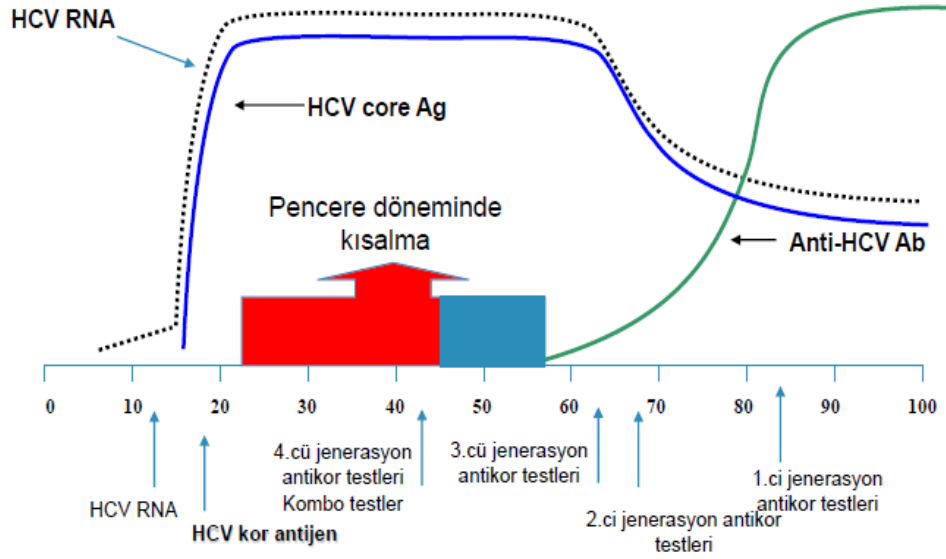
HCV kor antijeninin saptanmasına yönelik ilk çalışma 1996 yılında yapılmıştır. Kor proteini HCV'nin yapısal bir proteini olup, aminoasit dizisi diğer HCV proteinleri ile karşılaştırıldığında farklı HCV suşları arasında oldukça iyi korunmuş bir bölgedir. HCV kor antijen, diagnostik olarak birçok serolojik testte kullanılmaktadır. Kor antijeni, HCV RNA'nın pozitifleşmesinden 1-2 gün sonra serumda saptanabilir düzeye çıkmaktadır. Son yıllarda gündeme gelen HCV kor antijeni testi özgün monoklonal antikorlar kullanılarak kor antijenlerinin tespiti temeline dayanır ve tüm serotipleri saptayabilir. Yapılan çalışmalarda, HCV kor antijen seviyeleri ile HCV RNA arasında iyi bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (63).

HCV kor antijeni, moleküler ağırlığı 21 kDa olan 191 amino asitten oluşan bir proteindir. HCV poliprotein translayonu sırasında yeni oluşan polipeptid (64), ilk olarak konak endoplazmik retikulum membranına yönelir. Konak sinyal

peptidazları tarafından kesilen poliproteinden C terminal ucunda E 1 sinyal sekansını içeren immatür kor protein şekli oluşur. Bu sinyal peptidi konak sinyal peptidazı tarafından daha ileri işlemlere tabi tutulur ve matür kor proteini oluşur. Kor proteinin çoğu sitoplazmadadır. Bunlar sitoplazmada endoplazmik retikuluma bağlı veya lipid damlacıkları yüzeyinde lokalizedir. Aynı zamanda kor proteinin az bir kısmı enfekte hücrelerin çekirdeğinde de bulunabilir (65).

HCV kor antijeni (HCV Ag) muhtemelen hem HCV viryonlarında hem de RNA içermeyen çekirdek protein yapılarında bulunur ve enfekte olmuş kişilerin serumunda tespit edilmektedir. Son on yılda geliştirilen birkaç HCV Ag testinin HCV RNA analizleri ile iyi korelasyon gösterdiği kanıtlanmıştır. Dolayısıyla, bu analizler aktif HCV enfeksiyonunun teşhisi için ve ayrıca antiviral tedaviye yanıtın izlenmesinde HCV RNA'sına bir alternatif olarak kullanılmıştır (66).

HCV kor antijeni HCV RNA'nın serumda ortaya çıkışından ortalama 2 gün sonra ve anti HCV antikorlarının oluşumundan önce tespit edilebilir. Bunun sonucu olarak da HCV kor antijen testleri HCV enfeksiyonunu HCV antikor tarama testlerinden daha erken, 38–50 gün içinde saptayarak HCV bulaş riskini önemli ölçüde azaltmıştır. Pencere dönemi ise ortalama 23.9 gündür. Pencere dönemi antikor testinde ise 7–8 haftaya uzayabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, HCV kor antijeninin; HCV RNA tespiti ile tespit edilebilir anti-HCV'nin ilk ortaya çıkması arasındaki zaman boşluğunu önemli ölçüde kapattığı bildirilmiştir (67).



Şekil 2.10. HCV Kor Antijen Testinin, Diğer Testlerle Uyumu

Yeni nesil testlerin bazıları sadece kor antijenini saptarken bazıları da hem antijen hem de antikorları saptayabilmektedir.

Günümüzde, HCV kor antijenini saptayan beş ticari kit mevcuttur:

1. Abbott Architect HCV kor antijen testi
2. Fujirebio Lumipulse Ortho HCV kor antijen testi
3. Japonya ve Çin'de kullanılan Eiken Lumispot HCV kor antijen testi
4. Hunan Jynda Bioengineering Group HCV kor antijen testi ve
5. Ortho ELISA HCV kor antijen testi (68).

Yapılan birçok çalışmada duyarlılığı en yüksek kor antijen testi, çalışmamızda da kullanıldığı gibi, Abbott Laboratories, Diagnostics Division,(Abbot Park, IL, ABD) olduğu tespit edilmiştir. Testin alt saptama sınırı 0.06 pg / ml (3 fmol /l-500-3000 IU/ml HCV RNA), kantitasyon üst sınırı 20.000 fmol/ml'dir ve işlem süresi 40 dakikadır (69).

Eiken Lumispot ve Fujirebio Lumipulse, Abbott ile aynı teknolojiyle tasarlanmış ve benzer duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir, ancak çalışmalar Çin ve Japon araştırmalarıyla sınırlıdır. Bu testler içinde; Hunan Jynda Bioengineering Group HCV kor antijen testi ise en düşük duyarlılığa sahiptir (68).

Abbott Laboratories, Diagnostics Division,(Abbot Park, IL, ABD) testinin cutt-off değeri 3.00 fmol/litre (0.06 pg/Ml-500-3000IU/ml)'dir. Bu değer altındakiler (<3.00 fmol/l) non reaktif, üzerindeki değerler (≥ 3.00 fmol/l) reaktif kabul edilir. ≥ 3.00 fmol/l ve <10.00 fmol/l arasında ki değerler tekrarlanmalıdır. Her iki testte nonreaktif çıkan örnekler HCV kor antijeni açısından nonreaktif, tekrarlanan testlerden bir veya ikisi ≥ 3.00 fmol/l ise test reaktif kabul edilir (70).

HCV RNA testleri

Anti-HCV test sonuçları HCV enfeksiyonunun geçirilmiş bir enfeksiyon mu yoksa halen devam eden bir enfeksiyon mu olduğunu gösteremez. Replikasyonun göstergesi olan ve aktif enfeksiyonu belirleyen HCV RNA'nın çalışılması HCV akut enfeksiyon tanısı için en önemli testtir (71).

HCV RNA, enfeksiyonda ilk ortaya çıkan göstergedir ve viral replikasyonun direk belirteçidir. HCV RNA enfeksiyondan 1–2 hafta sonra, anti-HCV antikoru yükselmeden tespit edilebilir ve karaciğer enzimlerinde herhangi bir değişiklik olmadan ortaya çıkar (72).

HCV RNA hastalık spontan olarak iyileşmeden önce genellikle pik yapar. Kronik hastalığa doğru ilerleyen vakaların çoğunda HCV RNA artışı kademeli olarak azalır ve sonra stabil hale gelir. Kronik hastalarda düzeyi stabildir (73).

Kalitatif PCR

Kalitatif HCV RNA testleri kantitatif testlerden daha duyarlıdır. Kalitatif testler pozitif/negatif, tespit edildi/edilemedi şeklinde sonuç veren testlerdir. Bunlar pozitif olan EIA testlerinin konfirmasyonu için ve antiviral tedavinin sonucunu izlemek için kullanılır. Kalitatif testler klasik RT-PCR, gerçek zamanlı PCR veya

transkripsiyon temelli amplifikasyon testleridir. HCV tanısında kullanılan kalitatif PCR'in, HCV-RNA saptama miktarı 10-50 IU/ mL dir (74).

Kantitatif PCR

Viral yük tayinini saptamaya yöneliktir. Bu yöntemle özellikle immün düşük hastalarda, hastalığın seyrinin takibinde yada antiviral tedavinin izlenmesinde önem kazanmıştır. HCV-RNA saptama miktarı 600 IU/mL dir. HCV RNA kantitatif testlerde her ml başına virüs miktarı verildiği için viral yük testleri olarak adlandırılır (75).

Viral yük değerlerinin izlenebilmesi ve karşılaştırılabilmesi için sonuçlar IU/ml biriminde ve log aritmetik değerleri ile birlikte verilmesi önemlidir.

HCV viral yükünü ölçmek için PCR yönteminin değişik uygulamaları geliştirilmiş; özellikle son yıllarda rutin laboratuvarlarda mikrobiyolojik tanı amacıyla otomatize sistemler kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde, farklı üreticilerin otomatik gerçek zamanlı RT-PCR ve transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) platformları dünya genelinde yaygın olarak kullanılmaktadır (72). RT-PCR yöntemi ile çok düşük miktarlarda HCV-RNA 10-50 IU/mL tespit edilebilmektedir. Özellikle antiviral tedavinin izlenmesinde; virüs yükünün kantitatif olarak gösterilmesinde PCR yönteminin önemi büyüktür (76).

Tablo 2.4. Plazma veya serum örneklerinde hepatit C virüs RNA'sını ölçmek için pazarlanan ve lisanslanan otomatik analizlerin genel görünümü

Test adı	Üretici firma	Kullanılan teknoloji
Artus Hepatit C QS-RGQ	Qiagen	Gerçek zamanlı RT-PCR
CobasAmpliprep / CobasTaqMan v2.0	Roche	Gerçek zamanlı RT-PCR
Abbott Real TimeHCV	Abbott	Gerçek zamanlı RT-PCR
Versant HCV RNA 2.0	Abott	Gerçek zamanlı RT-PCR
Aptima HCV Quant Dx Testi	Hologic	Gerçek zamanlı RT-PCR

Pahalı, zaman alıcı, yanlış pozitif sonuçlar verebiliyor olması, yoğun emek, teknik beceriler isteyen testler olması HCV RNA testlerinin diğer dezavantajlarından (72).

Tablo 2.5. HCV tanı testlerinin değerlendirilmesi

ANTİ-HCV(EIA)	HCV RNA(NAT)	TAMAMLAYICI TESTLER	HCV DURUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ
Negatif	Çalışmaz	Çalışmaz	HCV enfeksiyonu yok
Pozitif	-	-	Bilinemez, pozitif tarama testi sonucu için doğrulamaya ihtiyaç var
Pozitif	Pozitif	Pozitif	Akut enfeksiyon
Pozitif	Negatif	Pozitif	HCV ile enfektedir, Aktif enfeksiyonu dışlamak için HCV RNA tekrar test edilmeli
Pozitif	-	Pozitif	HCV ile enfektedir, enfeksiyon durumunu belirlemek için karaciğer enzimleri bakılmalıdır
Pozitif	Negatif	Negatif	HCV enfeksiyonu yok

Bazı hastalarda anti-HCV pozitif iken HCV RNA daha saptanmayacak düzeyde olabilir. HCV RNA testi vireminin olmadığı döneme rast gelebilir. Kronik replikasyon başlamadan önce HCV RNA geçici olarak kaybolmuş olabilir (56).

2.11.3. HCV Genotipleme Testleri

HCV ile enfekte hastalarda kronik enfeksiyon gelişmesinde rol oynayan konak ve viral faktörler vardır. Bunlar alkol kullanımı, karaciğerin histolojik özelliği, hastanın yaşı, diğer hepatit virüsleri ile koinfeksiyon, virüsün bulaşma yolu, hastalığın süresi, viral yük ve HCV'nin genotipik değişkenliğidir. Protein kodlayan gen bölgesindeki mutasyonlar immun sistemden kaçmasında önemli rol oynar. Buna rağmen HCV genotiplerinin önemi halen tartışmalıdır. Diğer taraftan, genotip tayini tedaviye yanıtı etkileyen başlıca faktörlerden biridir (77).

HCV yedi genotipe ve bir çok subtipo ayrılmaktadır. HCV genotipleri serolojik olarak veya moleküler yöntemlerle belirlenebilir (78).

HCV genotipinin moleküler olarak saptanmasında altın standart NS5B veya E1 bölgesinin direk sekanslamasıdır (79). Bu yöntemler moleküler epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmaktadır. Pratik uygulamada ise birçok ticari kitler bulunmaktadır (80).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda HCV genotipleri içinde genotip 1b %66.7-100 arasında olup birinci sıklıkla görülmektedir. İkinci sıklıkla gösterilen genotip ise %5.8-33.3 oranındaki genotip 1a'dır. Daha az sıklıkla genotip 2a, 3a, 4, 4c bildirilmiştir. Görüldüğü gibi, Türkiye'de genotip 1 HCV'li olguların %81-96.7'sinde saptanmıştır (81).

2.12. HCV Aşısı

Replikasyonda önemli rolü olan RNA polimeraz özelliği nedeniyle HCV suşlarında mutasyonlara sıklıkla rastlanması ve türümsülerin kolaylıkla oluşması, etkenin sitotoksik T lenfositlerinden olduğu kadar viral kılıf proteinlerine (gpE1 ve gpE2) karşı oluşan antikorlarından da kolaylıkla kaçabilmesine neden olur (82).

Tüm bu olumsuzluklara rağmen HCV'nin hücre kültüründe üretilmemesi aşı çalışmalarını kısıtlanmasının nedeni olmuştur. Ancak insan hepatoma hücrelerinde virüslerin çoğaltılmasının başarılması aşı çalışmalarında önemli bir adım olmuş ve istenen miktarda ve özellikle immünojen üretiminin kapısını aralamıştır (83).

Günümüzde HCV aşuları konusunda farklı epitoplara ait peptidlerin çeşitli adjuvanlar eşliğinde uygulanması şeklinde başlatılan çalışmalar, vektörlerin kullanıldığı aşular, rekombinan protein aşuları ve nihayet DNA aşuları şeklinde devam etmektedir (84). Bu tür çalışmalar, ileride kullanıma girecek HCV aşısının karaciğer transplantasyonu sayısına nasıl etki edeceği; ya da aşı kullanımı ile tedavi giderlerinin nasıl değişeceği maliyet- etkinlik irdelenmeye başlanmıştır (85).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2017/08 no'lu kararı ile onay alınmıştır. 2017-1880 no'lu proje kodu ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Bu araştırma iki basamakta gerçekleştirilmiştir.

İlk basamak: Aralık 2016- Aralık 2018 tarihleri arasında Fakültemizin Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Moleküler laboratuvarına, hepatit C enfeksiyon ön tanılı hastalardan gelmiş, rutin olarak Anti-HCV ve HCV-RNA testi çalışılmış 600 serum örneğinde, HCV kor antijen testi çalışılarak, HCV-RNA ve HCV kor antijen testlerinin uyumu araştırılmıştır.

İkinci basamak: Bu zaman dilimi içerisinde Gastroenteroloji bölümü tarafından tedavisine karar verilen 150 hastanın tedaviye başlamadan önce, takiben 4. veya 8. haftada, tedavi bitiminde ve tedavi sonrası 12. haftada alınan serum örneklerinde rutin olarak çalışılan HCV-RNA testine ilave olarak HCV kor antijen testi çalışılarak bu iki testin hastaların tedavilerinin takip sürecindeki uyumu ve korelasyonu değerlendirilmiştir.

Hastalardan alınan serum örnekleri, HCV kor antijen testi çalışılincaya kadar -20°C'de saklanmış. Çalışma yapılacağı zaman örnekler oda ısısında çözdürülerek yapılacak test için uygun hacimlere ayrılmıştır (HCV kor antijen testi için 500 µl serum kullanıldı).

Anti-HCV antikor testi kemilüminesans mikropartikül immunoassay prensibi ile çalışan ticari Architect® i2000SR CIA system (Abbott Laboratories, Diagnostics Division, IL, USA) 2. jenerasyon anti-HCV testiyle rutin olarak çalışıldı.

Serumda HCV RNA kantitasyonu için real-time PCR yöntemi uygulanarak, üretici firmanın önerileri doğrultusunda rutin olarak çalışıldı.

3.1. HCV Kor Antijeninin Saptanması

Çalışmamızda HCV kor antijen testi, serum örneklerinde kor antijenini kantitatif ölçen iki basamaklı kemilüminesans mikropartikül immün analiz yöntemiyle çalışılmıştır. Çalışmada her bir örnekten 110 µl hacminde alınarak, anabilim dalımız ELİSA laboratuvarında mevcut olan Abbott Laboratories, Diagnostics Division (Abbot Park, IL, USA) tam otomatize ELISA platformunda ve Architect HCV kor antijen test kiti kullanılarak çalışılmıştır.

3.1.1. Test Prosedürünün Temel Bilgileri

ARCHITECT HCV Ag test kiti, Hepatit C virüsü kor antijenin kantitatif tayini amaçlı kullanılan bir testtir.

1. Numune, Ön İşlem Reaktifi 1 ve Ön İşlem Reaktifi 2 birleştirildi. Ön işleme tabi tutulan numunedan alınan bir alikot aspire edildi ve yeni bir reaksiyon kabına boşaltıldı. Ön işlem yapılan numune, Tetkik Spesifik Dilüent ve anti-HCV kaplı mikropartiküller birleştirildi. Ön işlem yapılan numunede bulunan HCV Ag, anti-HCV kaplı mikropartiküllere bağlandı.
2. Yıkamanın ardından, akridinyum işaretli anti-HCV konjugatı eklenerek, bir reaksiyon karışımı elde edildi.
3. Başka bir yıkama döngüsünün ardından, reaksiyon karışımına Pre-Trigger ve Trigger Çözeltileri ilave edildi.
4. Ortaya çıkan kemilüminesans reaksiyon bağlı ışık birimleri (RLU'lar- relative light units) olarak ölçüldü. Numunedeki HCV Ag miktarı ile ARCHITECT iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasında doğrudan bir ilişki vardır. Numunedeki Hepatit C kor antijeni konsantrasyonu önceden elde edilmiş bir ARCHITECT HCV Ag kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlendi. Numunenin konsantrasyonu en az 3.00 fmol/L ise, numune HCV Ag için reaktif kabul edildi.

3.1.2. Çalışmaya Hazırlık

- Çözündürülen numuneleri düşük hızda otomatik karıştırıcıda ya da 10 kez ters yüz ederek iyice karıştırıldı.
- Sonuçlarda tutarlılık sağlamak için örnekler bir santrifüj tüpüne alınarak testten önce 10 dakika boyunca 3000 x g'de santrifüjlendi.
- Fibrin, kırmızı kan hücrelerinden arındırılan numuneyi test için bir numune kabına veya ikincil tüpe aktarıldı. Yalnızca arındırılan numuneyi aktarmaya, yani lipemik materyali aktarmamaya özen gösterildi.
- Tüm numuneler hava kabarcığı bakımından kontrol edildi. Analiz öncesinde bir aplikatör çubuk ile hava kabarcıkları yok edildi. Çapraz kontaminasyonu önlemek için her numune için yeni bir aplikatör çubuk kullanıldı.

Numuneler 2-8°C'de soğutulmuş olarak 5 güne kadar saklanabilir. Test işlemi 5 günden fazla gecikecekse -20°C veya daha soğukta muhafaza edilir. İkidenden fazla donma/çözünme döngüsünden kaçınılmalıdır.

3.1.3. Çalışma Prosedürü

- Reaktif kitini ilk yüklemeye önce nakledilen reaktifler tamamen çözündürüldü ve iyice karıştırıldı. Reaktifler bir kez yüklendikten sonra daha fazla karıştırma gerekmez.
- Assay spesifik dilüent, plastik torbasını yırtarak açıldı.
- Tüm reaktif şişelerini 30 kez ters yüz edildi.
- Mikropartiküllerin yeniden süspansiyon olduğundan emin olmak için şişe gözle incelendikten sonra, mikropartiküller hala şişeye yapışık durumdaysa, mikropartiküller tamamen yeniden süspansiyon olana kadar şişe çalkalanmaya devam edildi.
- Mikropartiküller yeniden süspansiyon edildikten sonra, şişeye bir septum yerleştirildi.
- Reaktif kiti Architect sistemine yerleştirildi.
- Hasta numuneleri ve kontrolleri Architect sistemi kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi girildi.

- ARCHITECT HCV Ag Kalibratör ve Kontrollerini yüklenmeden önce ters düz edildi.
- Önerilen hacimler: her bir kalibratör için: 12 damla. Her bir kontrol için: 7 damla.
- Numuneler cihaza yüklendikten sonra RUN tuşuna basıldı.

3.1.4. Sonuç Yorumlama

Prosedüre göre cut off değeri 3.00 fmol/litre (0.06 pg/ml-500-30000 IU/ml) idi. Okuma değeri <3.00 fmol/litre non reaktif, 3.00 fmol/litre ve üzeri değerler reaktif kabul edilmiştir.

≥ 3.00 fmol/L ila < 10.00 fmol/L arası konsantrasyon değerlerine sahip olan numuneler iki tekrarlı olarak yeniden test edilmiştir.

3.2. Kantitatif HCV RNA Testi

Serumda HCV RNA kantitasyonu için real-time PCR yöntemi (RTA Biorad-Rad/RTA Hamilton real-time PCR) kullanılarak ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda rutin olarak çalışıldı. Kullanılan real-time PCR testinin saptama sınırı 15 IU/ml ve lineer aralığı $43-6.9 \times 10^7$ IU/mL'dir.

Bu amaçla, üretici firmanın önerileri doğrultusunda PCR karışımları hazırlandıktan sonra tüpler cihaza yerleştirilmiş ve sırasıyla ters transkripsiyon, amplifikasyon ve hibridizasyon işlemleri uygulanmıştır.

İşlemin ilk basamağında, biyotinle işaretli primerlerin hedef RNA dizisine bağlanması, RT enzimi ile RNA'dan cDNA sentezi ve daha sonra cDNA'dan milyonlarca kopya komplementer hedef DNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Son aşamada ise, çoğaltılmış ürünler kantitatif olarak belirlenmiştir.

Bu test 3 basamaklı bir test olarak yapılmıştır. (1) HCV RNA'nın izolasyonu için örneğin hazırlanması; (2) hedef RNA'dan tamamlayıcı DNA'yı (cDNA) oluşturmak için ters transkripsiyonu işlemi ve (3) eş zamanlı olarak hedef cDNA'nın PCR amplifikasyonu ve hedefe spesifik çift işaretli oligonükleotid ölçüm probunun saptanması.

3.3. Anti-HCV Testi

Anti-HCV testleri kemilüminesans EIA yöntemiyle (Architect i2000SR, Abbott, ABD) üretici firmaların önerileri doğrultusunda ELISA laboratuvarında rutin olarak çalışılmış; Architect Anti-HCV testi sonuçları Sample/Cut off (S/CO) üzerinden değerlendirilmiştir. S/CO değeri <1.0 ise nonreaktif; ≥ 1 ise reaktif olarak değerlendirildi.

3.4. İstatiksel Analiz

HCV RNA ve HCV Kor testi arasındaki tedavi sonrasındaki değişimlerin uyumu deming regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Özgüllük, duyarlılık, pozitif prediktif değer (PPD) ve negatif prediktif değerleri (NPD) Medcalc.net kullanılarak hesaplandı. HCV kor antijen ve HCV RNA arasındaki korelasyon ilişkisi ise Spearman korelasyon katsayısı ile hesaplandı.

Deming regresyonunun temel mantığı $y=a+b \times x$ modelini test etmektedir. $Y=0+1 \times b$ olursa yöntemler uygun denilmektedir. $Y=a+b \times x$ 'deki a değerinin (Sabit) 0'dan çok farklı çıkmasının temel sebebi HCV RNA ve HCV Kor ölçüm sonuçlarının range (aralık/ (max-min)) değerlerinin çok açık (yüksek) olmasıdır. Bu kabul edilebilir bir sonuçtur. Önemli olan $y=a+b \times x$ modelindeki b' nin değeridir. B (eğim) 1'e olabildiğince yakın olması istenir ki iki yöntem bir biri ile uyumlu sonuç çıkmaktadır diye yorumlama yapılabilir. Ki bu çalışmada eğim (b) değeri 0.001 çıkmıştır. Bu değer 1'e yakın olarak kabul edilmektedir. Altın standart RNA yöntemine alternatif olarak Kor yönteminin kullanılması önerilmektedir. Bu analiz sonrasında istatiksel bir p değeri hesaplanamaz. Sadece regresyon denklemi oluşturulur.

4. BULGULAR

Bu çalışmanın ilk basamağında Aralık 20016-2018 yılları içerisinde ESOGÜ Tıp Fakültesi Eğitim ve Uygulama Hastanesi Gastroenteroloji Bölümüne başvuran, hepatit C virüs enfeksiyonu ön tanılı 600 hastanın, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ELİSA ve Moleküler laboratuvarlarında rutin çalışılan Anti HCV ve HCV RNA testlerine ek olarak son yıllarda HCV enfeksiyonlarının kesin tanısında rutin tanı yöntemleri içerisine girmesi konusu tartışılan, HCV kor antijen testi çalışıldı. Bu hastaların 350'si kadın, 150'si erkek, yaş ortalaması ise 57 olarak belirlendi.

HCV enfeksiyon ön tanılı 600 hastanın toplam 49'unda çalışılan bu üç testten en az bir tanesi (Anti-HCV, HCV-RNA, HCV kor antijen) pozitif saptandı. Bunlardan 28 hastada rutin çalışılan HCV RNA ve Anti HCV pozitifliğinin yanı sıra HCV kor antijeni pozitif bulundu. 17 hastada ise Anti HCV ve HCV RNA pozitif, HCV antijeni negatif, 49 hastadan 3'ünde HCV RNA ve HCV kor antijeni pozitif, Anti- HCV negatif saptandı. Bir hastada ise tek başına HCV RNA pozitifliği bulundu.

Tablo 4.1. 600 hastada pozitiflik saptanan 49 hastanın test sonuçlar

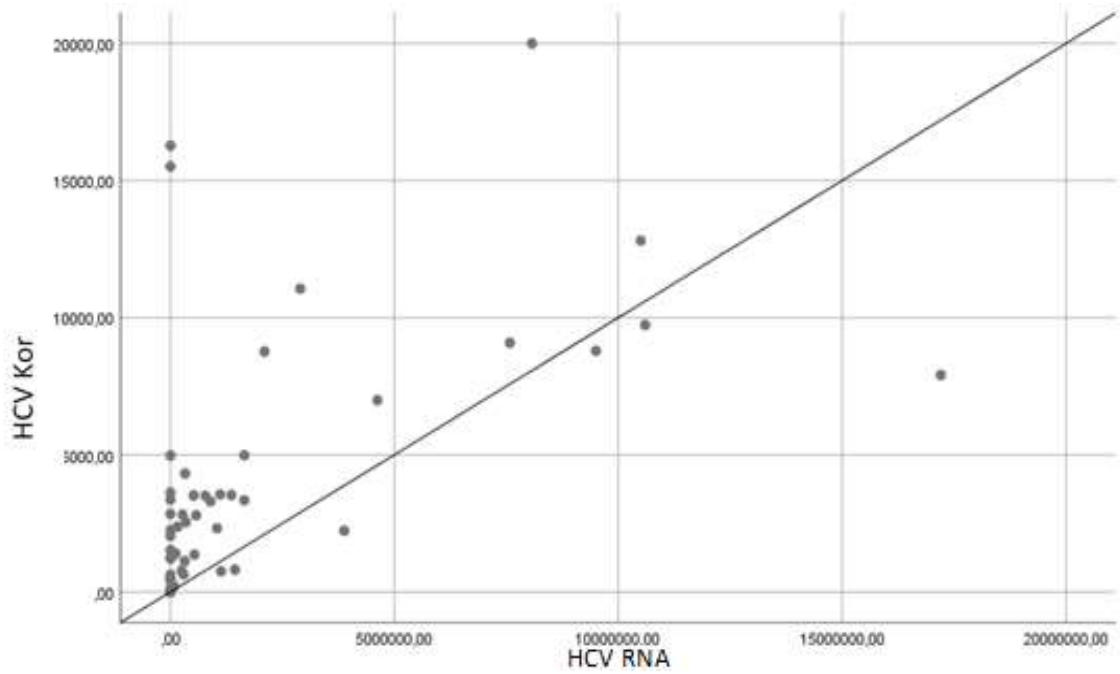
Test	HCV RNA+ Anti HCV+HCV kor ag	HCV RNA+ Anti HCV	HCV RNA	HCV RNA+HCV kor ag	Toplam
Pozitif	28	17	1	3	49

İstatiksel olarak HCV RNA ve HCV kor antijen arasındaki uyumu belirlemek için deming regresyon analizi (%50 ve üstü değerle uyumlu) uygulandı. Bu analizde iki test arasındaki uyumun %54.69 olduğu belirlendi. Bu değer altın standart yöntem olan HCV RNA ile HCV kor antijen testlerinin arasındaki uyumun iyi olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.2. HCV kor antijeninin duyarlılığı, özgüllüğü, PPD, NPD ve doğruluğu

Test	Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD	Doğruluk
HCV Kor antijen	%91.49	%100	%100	%97.30	%87.76

Tablo 4.2'de görüldüğü gibi HCV kor antijen testinin duyarlılığı %91.49, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %97.30, doğruluğu %87.76 olarak bulundu.



Şekil 4.1. HCV kor antijen düzeyi ile HCV RNA düzeyi arasındaki ilişki

Şekil 4.1. de; Pearson korelasyon katsayısı ile HCV RNA ve HCV kor antijen arasında yüksek düzeyde korelasyon olduğu gösterildi ($p < 0.01$).

Çalışmamızın ikinci basamağında; Gastroenteroloji bölümü tarafından tedavisine karar verilen 150 hastanın tedaviye başlamadan önce, takiben 4. veya 8. haftada, tedavi bitiminde ve tedavi sonrası 12. haftada alınan serum örneklerinde rutin olarak çalışılan HCV-RNA testine, ilaveten tez kapsamında HCV kor antijen testi çalışılarak bu iki testin hastaların tedavilerinin takip sürecindeki uyumu ve korelasyonu değerlendirilmiştir. 150 hastanın 94'ü kadın, 56'sı erkek hastadır. Hasta yaş ortalaması 55.37 olarak hesaplandı.

İki yöntem (HCV RNA ve HCV kor antijen) arasındaki uyum deming regresyon analizi ile %59.18 olduğu hesaplandı. Uygulanan analizden çıkan sonuç, HCV kor antijen sonuçlarının altın standart yöntem olan HCV RNA sonuçları ile korelasyonunun iyi derecede olduğunu göstermektedir.

150 hastada üç farklı zaman diliminde Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışılan Anti HCV, HCV RNA ve HCV kor antijen test sonuçları tablo 4.3'de yer almaktadır. Tedaviye başlamadan önceki zaman diliminde 150 hastanın, 125'i Anti-HCV açısından pozitif, 25'i negatif iken, HCV RNA açısından 111'i pozitif, 39'u negatif, HCV kor antijen açısından ise, 109 hasta pozitif, 41 hasta ise negatif olarak tespit edildi.

150 hastanın tedavi sırasında, tedavinin 8.haftasında incelenen serum örneklerinde Anti HCV açısından 84 hasta pozitif, 66 hasta negatif, HCV RNA açısından 55 hasta pozitif, 95 hasta negatif, HCV kor antijen açısından 63 hasta pozitif iken 87 hasta negatif olarak tespit edildi.

Yine bu 150 hastanın tedavi bittikten sonraki test sonuçları ise Anti HCV: 119 pozitif, 31 negatif, HCV RNA: 14 pozitif, 136 negatif, HCV kor antijen: 24 pozitif, 126 negatif olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. HCV Enfeksiyonlu 150 Hastada, Üç Farklı Zaman Diliminde Çalışılan Anti HCV, HCV RNA ve HCV Kor Antijen Test Sonuçları

TEDAVİYE BAŞLAMADAN ÖNCE	Anti HCV		Toplam	HCV RNA		Toplam	HCV kor ag		Toplam
	Pozitif	Negatif	150	Pozitif	Negatif	150	Pozitif	Negatif	150
	125 (%83.3)	25 (%16.6)		111(%74)	39(%26)		109(%72.6)	41(%27.3)	
SEKİZİNCİ HAFTA	84(%56)	66(%44)	150	55(%36.6)	95(%63.3)	150	63(%42)	87(%58)	150
TEDAVİ BİTİMİ	119(%79.3)	31(%20.6)	150	14(%9.3)	136(%90.6)	150	24(%16)	126(%84)	150

Tablo 4.3'de görüldüğü gibi; toplam 150 hastada tedaviye başlamadan önce, Anti HCV: 125 (%83.3), HCV RNA: 111 (%74), HCV kor antijeni: 109(%72.6) hastada pozitif saptandı. Tedavinin sekizinci haftasında, Anti HCV: 84(%56), HCV RNA: 55(%36.6), HCV kor antijeni 63(%42) hastada pozitif olarak tespit edildi. Bu 150 hastanın tedavileri bittikten sonra yapılan testlerinde ise; Anti HCV:119(%79.3), HCV RNA 14(%9.3), HCV kor antijeni: 24 (%16) hastada pozitif olarak saptandı.

Tablo 4.4. HCV kor antijeninin testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer, negatif prediktif değer ve doğruluk yüzdeleri

Test	Duyarlılık	Özgüllük	PPD	NPD	Doğruluk
HCV kor antijen	%96.52	%95.28	%95.11	%95.80	%92.58

Tabloda HCV kor antijen testinin altın standart olan HCV RNA testine göre duyarlılığı (%96.52), özgüllüğü (%95.28), pozitif prediktif değeri (%95.11), negatif prediktif değeri (%95.80) ve doğruluğu (%92.58) hesaplandı. Bu oranlar iki test arasında yüksek oranda korelasyonun olduğunu ve tedavi takibi sırasında HCV RNA testine alternatif bir test olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

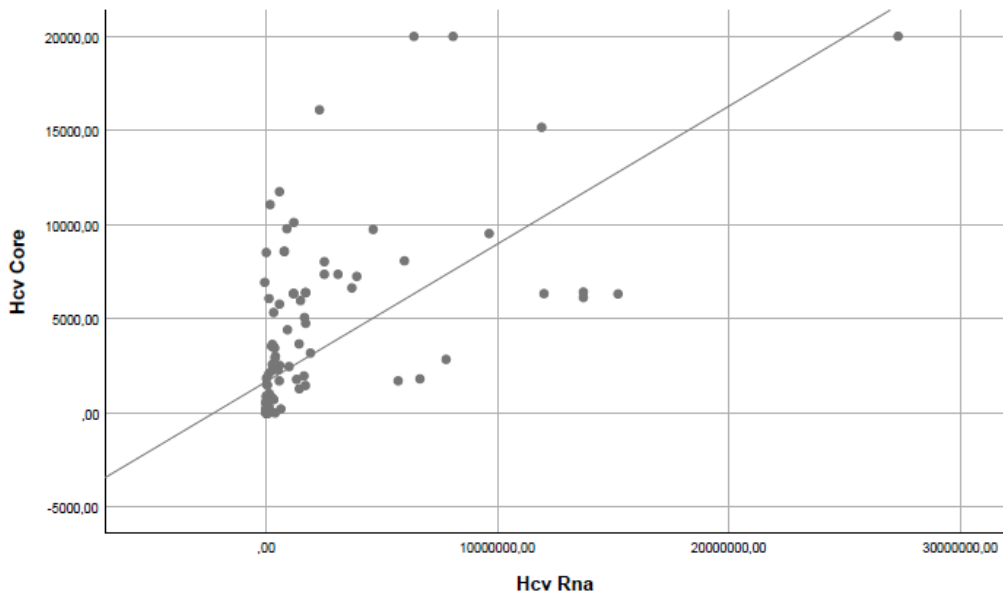
HCV RNA'sı pozitif 111 hastada viral yük düzeyleri ile HCV kor antijeni pozitif saptanan 109 hastanın sonuçları arasındaki ilişki, tablo 4.5'te yer almaktadır.

Tablo 4.5. HCV RNA viral yük pozitif 111 hastanın viral yük düzeyleri ile HCV kor antijen sonuçlarının karşılaştırılması.

HCV RNA viral yük (IU/ml)	HCV kor antijen Negatif	HCV Kor antijen Pozitif
15–20,000	2(%1.8)	11(%10.1)
20,000–100,000	0	14(%12.8)
100,000–500,000	0	28 (%25.6)
500,000–800,000	0	21(%19.2)
>800,000	0	35(%32.1)
Toplam 111	2	109(% 98.19)

HCV RNA'sı pozitif 111 hastanın 109 (% 98.19) unda HCV kor antijeni pozitif saptandı. HCV RNA viral yük düzeyleri yükseldikçe, HCV kor antijen testinin saptama oranının arttığı gözlemlendi. Gerçekten de, HCV RNA' sı pozitif HCV kor antijeni ise negatif saptanan iki hastanın viral yüklerinin düşük düzeyde (2.1×10^1 ve 1.2×10^2) olduğu görüldü.

HCV RNA ve HCV kor antijen arasındaki korelasyon ilişkisi için Spearman korelasyon katsayısı 0,834 olarak hesaplandı ($p < 0.01$).



Şekil 4.2. HCV kor antijen düzeyi ile HCV RNA düzeyi arasındaki ilişki

Şekil 4.2'de, HCV RNA ve HCV kor antijen arasındaki ilişkinin gösterildiği Pearson korelasyon katsayısı analizi yer almaktadır. Bu analize göre, iki test arasında yüksek düzeyde korelasyon olduğu görülmüştür ($p < 0.01$).

5. TARTIŞMA

Hepatit C virüsü, Dünya çapında kronik karaciğer hastalığının önemli nedenlerinden biridir. Aynı zamanda siroz ve hepatosellüler karsinomun ve yetişkin karaciğer nakillerinin en önemli nedenidir. (86). Araştırılan coğrafik bölgeye göre, hepatit C virus enfeksiyon prevalansı değişiklik gösterir. Bu durum, toplumların epidemiyolojik özelliklerinin yanısıra, risk faktörlerinin farklılığı ile ilişkilidir (87)

HCV enfeksiyonu oluşumunda en önemli risk faktörleri, iğne batması intravenöz ilaç/uyuşturucu kullanımı, kan ürünleri transfüzyonu, organ nakli, hemodiyaliz, mesleki maruziyet, cinsel bulaşma ve intrauterin geçiştir. Kişisel jilet, diş fırçası, tırnak makası gibi eşyalar da bulaş için risk taşımaktadırlar (87).

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl HCV'ye bağlı ölüm sayısı yaklaşık 8.000 ila 10.000 kişi civarındadır. Yeterli önlemler alınmaz ise 10–20 yıl içinde bu sayının üçe katlanacağı tahmin edilmektedir (88).

HCV enfeksiyonlarının mikrobiyolojik tanı ve takibinde total anti-HCV antikorları, HCV-RNA ve HCV kor antijenini saptamaya yönelik testler kullanılmaktadır (89). Günümüzde tanıda genellikle ilk tercih edilen yaklaşım ELISA yöntemleri ile anti-HCV antikorlarının araştırılması şeklindedir (90). Hepatit C virüsü için inkübasyon süresi 2-26 hafta arasında değişmekle birlikte ortalama yedi hafta civarındadır. HCV RNA bulaştan sonra 1-2 hafta içinde pozitifleşir ve hastalığın iyileşmesi ile birlikte ortadan kaybolur. HCV'ye özgül antikorlar serumda enfeksiyon sonrası 2-8. haftalarda saptanabilir seviyelere ulaşmaktadır ve kronik HCV enfeksiyonunda ömür boyu varlığını sürdürmektedir (91). Birinci basamak Anti HCV testi bir tarama testi olup, HCV enfeksiyonlarının kesin mikrobiyolojik tanısı HCV RNA testleri ile konulmaktadır. Özellikle pencere dönemindeki akut HCV enfeksiyonlarında ve çeşitli immun yetmezlik tablolarında (örneğin AIDS, hipogammaglobulinemi, hemodiyaliz hastaları, organ transplant alıcıları, vb) bu açıdan dikkatle izlenmelidir. Anti-HCV test pozitifliği, aktif viral replikasyonun göstergesi olmadığı için, viral replikasyon göstergesi olan HCV RNA, günümüzde sıklıkla gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı testler kullanılarak gösterilmektedir (92).

Bizim araştırmamızın ilk basamağında 600 HCV enfeksiyon ön tanılı hastanın 49'unda HCV RNA, Anti HCV ve HCV kor antijen testlerinden en az biri pozitif bulundu. Bu hastalardan 28'inde test edilen her üç sonuç pozitif iken, 17 hastada HCV RNA ve Anti HCV pozitif, HCV kor antijen negatif bulundu. HCV RNA ve HCV kor antijeni pozitif, Anti HCV'si negatif 3 hasta, sadece HCV RNA'sı pozitif olan bir hasta saptandı.

İstanbul'da 2010 yılında Acar ve arkadaşları (93) tarafından yapılan bir araştırmada 72.695 donör taranmış, bunların 360'ı anti-HCV açısından pozitif tespit edilmiştir. Bu çalışma da anti-HCV pozitifliğini doğrulamak için moleküler testler yapılmış. 360 anti-HCV pozitif örneğın 54'ü bu testler ile doğrulanmış ve buna göre Anti-HCV yanlış pozitiflik oranı %85 olarak hesaplanmıştır.

Konya'da 2013 yılında yapılan bir çalışmada Anti HCV'si pozitif sekiz örneğın, doğrulama amacıyla yapılan HCV immun blot test sonuçlarının, şüpheli pozitif olduğu görüldü. Bunun üzerine, bu hastalarda çalışılan HCV RNA ve HCV kor antijen testleri çalışılarak, negatif olarak saptandı. Bu araştırmaya göre, şüpheli değerlendirilen immun blot testlerin doğrulanmasında kor antijen testinin HCV RNA'ya alternatif test olabileceğı sonucuna varılmıştır (94).

Brezilya'da Carneiro ve arkadaşlarının (95) 428 hemodiyaliz hastaları ile gerçekleştirdikleri bir araştırmada anti-HCV pozitifliğı tespit edilen 185 hastanın moleküler yöntemler ile konfirmasyonu yapılmıştır. 167 örnek (%90.3) pozitif olarak tespit edilmiş ve buna göre anti-HCV prevalansı %39 olarak hesaplanmıştır. Diğer 18 hastanın 4'ü negatif, 14'ü ise şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Anti-HCV antikoru negatif olan 243 örneğın 25'inde (%10.3) HCV RNA pozitifliğı bulunmuştur. Bu sonuçlar özellikle HCV antijenlerine karşı yetersiz antikor yanıtı olan hastalarda, moleküler tanı yöntemlerinin bir avantajı olarak yorumlanmıştır. HCV RNA taraması günümüzde duyarlılık açısından altın standart yöntem olmasına rağmen maliyeti yüksektir(95).

HCV kor antijeninin saptanmasına yönelik ilk bildirim 1996 yılında yapılmıştır (96). Kor proteini HCV'nin yapısal bir proteini olup, aminoasit dizisi diğer HCV proteinleri ile karşılaştırıldığında farklı HCV suşları arasında oldukça iyi korunmuş bir bölgedir. HCV kor antijeni, tanısala amaçla birçok serolojik testte

kullanılmaktadır (97). Bu antijen testinin saptama sınırı 1.5 pg/ml olup, HCV enfeksiyonu tanısında ek bir tanı yöntemi olduğu, farklı HCV RNA testleri ile korele olduğu görülmüştür (98).

Çalışmamızın ilk basamağındaki 600'lük hasta sonuçlarına göre HCV kor antijen test duyarlılığı %91.47, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %97.30 ve doğruluğu %87.76 olarak tespit edildi. Bu verilere göre, HCV enfeksiyon şüphesi olan hastalarda altın standart olan HCV RNA testine alternatif olarak HCV kor antijen testi uygulanabilir.

Meksika'da Sosa-Jurado ve arkadaşlarının (99) kan donörleriyle yaptıkları kapsamlı bir çalışmada anti-HCV (%0.84) pozitifliği saptanmıştır. Bunlardan anti-HCV S/Co 1.0-2.0 olanların %14'ünde, 2.1-3.0 olanların %44'ünde, 3.1-4.0 olanların %50'sinde 4.1-16 olanların %87.5'inde, 39 ve üzeri değerlerde %100 HCV RNA pozitifliği belirlenmiştir. Anti HCV ve HCV RNA pozitifliği arasındaki anlamlı farkın sebebini HCV enfeksiyonunun iyileşmesine, enfeksiyonun çok yeni olması nedeniyle viral yükün NAT saptama sınırının altında olmasına ve takip gerektirdiğine, anti-HCV antikor testinin başka antikorlarla çapraz reaksiyon verebileceğine bağlamışlardır.

Anti-HCV negatif olup, HCV RNA'nın pozitif saptanabildiği durumlar da vardır. Bunlar derin immunsupresyonu olan hastalar, hemodiyaliz hastaları ve agammaglobulinemik bireylerdir (100).

Pakistan'da Ali ve arkadaşlarının (101) yaptıkları çalışmada 254 Anti-HCV pozitif örneğin HCV RNA'larına bakılmış ve elde edilen sonuçlarda anti-HCV antikor testinde %16.92 oranında yalancı pozitiflik saptanmıştır. Anti HCV test sonuçlarının HCV enfeksiyonunu doğrulamak için tek araç olamayacağı, moleküler yöntemlerin hastanın enfeksiyon durumunu belirlemek ve antiviral tedavi öncesi kullanılması gereken testler oldukları sonucuna varılmıştır.

Bu sonuçlar yapılan birçok araştırmada olduğu gibi Anti HCV antikor testlerinin doğrulanmasında moleküler testlerin çalışılmadığı merkezlerde HCV RNA'ya alternatif olarak HCV kor antijen testinin çalışılabileceğini kanıtlamıştır. Bunun yanı sıra HCV kor antijen testleri hem maddi açıdan HCV RNA testlerinden

daha ucuz, hem de çalışma süresi olarak daha kısa olduğundan (çalışma süresi ortalama 30 dakikadır) HCV RNA çalışılmayan merkezlerde alternatif test olarak çalışılabileceği görüşündeyiz.

Kor antijeni, HCV RNA'nın pozitifleşmesinden 1-2 gün sonra serumda saptanabilir düzeye çıkmaktadır. Son yıllarda gündeme gelen HCV kor antijen testi özgün monoklonal antikorlar kullanılarak kor antijenlerinin tespiti temeline dayanır ve tüm HCV serotiplerini saptayabilir. Yapılan çalışmalarda, HCV kor antijen seviyeleri ile HCV RNA arasında iyi bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (100).

Yüksel ve arkadaşları ise (102) 123 HCV RNA pozitif, 48 HCV RNA negatif örnekle yaptıkları araştırmada, HCV kor antijen testinin (Abbott Diagnostics, Germany) duyarlılığını %94.3, özgüllüğünü %97.9, pozitif prediktif değerini %99.1, negatif prediktif değerini ise %87 olarak tespit etmişlerdir. Ankara'da 272 serum örneğinde yapılan benzer bir araştırmada da, HCV kor antijeninin duyarlılığı HCV RNA ile karşılaştırıldığında %75.8, özgüllüğü ise %95.1 olarak saptanmıştır (103).

Avrupa'daki kan bankalarında, 2 Ocak 2002 tarihi itibarıyla, HCV bulaşma riskini en aza indirmek için HCV kor antijeni veya HCV RNA ile tüm kan ve plazma ürünlerinin test edilmesi zorunlu hale getirilmiştir (104).

HCV kor antijeni stabilitesini koruyabildiğinden, imkânları kısıtlı olan, transport için uygun sıcaklık koşullarını sağlayamayan sağlık kuruluşlarında, HCV RNA'ya göre daha uygun bir seçenek olarak gözükmektedir (105).

HCV kor antijen testi, HCV enfeksiyonu şüpheli hastalarda tanıya yardımcı olarak ve enfekte olmuş bireylerin tedavi takibinde kullanılabileceği düşünülmektedir. HCV kor antijen testi, HCV spesifik antikorlarının gecikmiş yanıtı nedeniyle Anti-HCV antikorları negatif olan, yeni enfekte olmuş bireylerde akut HCV enfeksiyonunu tespit edebilir. Bu grup hastalar arasında, intravenöz uyuşturucu madde kullanıcıları veya hemodiyaliz hastaları, HIV-HCV koenfeksiyonu olan hastalar gibi yüksek HCV enfeksiyonu riski taşıyan hastalar yer alır; bu kişilerde de HCV enfeksiyonunun tespit edilmesinde HCV RNA testinin temin edilemediği durumlarda HCV kor antijen testi uygulanabilir (106).

Araştırmamızın ikinci basamağı, HCV enfeksiyon tanısı koyulmuş 150 hastanın tedaviye başlamadan önce 125'inde Anti HCV pozitif, 111'inde HCV RNA pozitif, 109'unda HCV kor antijen pozitif saptandı. HCV RNA'sı pozitif olup HCV kor antijen test sonucu negatif olan iki hastanın viral yüküne bakıldığında, çok düşük olduğu saptandı ve HCV kor antijen testinin HCV RNA viral yüküyle ilişkili olduğu belirlendi.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar gibi, ülkemizde yapılan bir araştırmada, 105 IU/ml üzeri HCV RNA konsantrasyonlarıyla kor antijeni arasındaki korelasyonun, 105 IU/ml altında olan değerlere göre daha anlamlı olduğu bildirilmiştir (107). Bu konuda yapılan bir başka araştırmada ise, HCV kor antijeninin (Architect HCV Ag, Abbott, Almanya) genotipten bağımsız olarak HCV RNA ile korelasyonunun iyi olduğu saptanmıştır. 118 HCV RNA pozitif örnekten 6'sı antijen negatif bulunmuş ve bunlarda diğer çalışmalarda olduğu gibi düşük düzey HCV RNA konsantrasyonlarındaki örneklerden oluştuğu görülmüştür (108).

Çalışmamızdaki yüz elli hastanın tedavisinin sekizinci haftasında, Anti HCV, HCV RNA ve HCV kor antijeni sırasıyla 84, 55 ve 63 hastada pozitif olarak saptandı. Yine aynı hasta grubunda, tedavi bitiminde Anti HCV 119, HCV RNA 14 ve HCV kor antijen 24 hastada pozitif bulundu.

Francois MJ Lamoury ve arkadaşlarının (109), 17 farklı ülkeden toplam 92 katılımcının 335 serum örneğiyle yaptıkları araştırmada, HCV kor antijen testinin HCV tedavisinin erken döneminde tedaviye yanıtın en iyi göstergesi olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmada erken tedavi sırasında, tedaviye başarılı bir şekilde yanıt veren hastalarda düşük düzeyde pozitifliği devam eden hassasiyeti yüksek HCV RNA sonuçlarının bazı durumlarda klinisyenin kafasını karıştırabileceği, bunun yerine tedavi sırasında negatif sonuç veren, HCV-RNA testine göre daha az hassas olan HCV kor antijen sonuçlarının, özellikle, HCV RNA'nın düşük düzeyde pozitif olduğu durumlarda, tedaviye yanıtı ve tedaviyi yönlendirmede, daha iyi bir gösterge olduğu öngörülerek, bizim çalışmamızda da olduğu gibi özellikle düşük viral yük düzeyleri, canlı virüsü göstermeyebileceğinden, hastaların gereksiz yere tedavilerinin uzatılmaması gerektiğini iddia etmektedirler.

Çalışmalar, HCV kor antijen kinetiği ve konsantrasyonlarının, HCV enfeksiyonunun tüm aşamalarında HCV RNA düzeyleri ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda HCV kor antijeni ile yapılan çalışmalar, bu testin HCV enfeksiyonu olan hastalarda antiviral tedavinin takibinde de kullanılabileceğini göstermektedir (110).

Araştırmamızın son aşamasındaki (tedavi bitiminde) test edilen sonuçlara göre HCV kor antijen testinin duyarlılığı %95.52, özgüllüğü %95.28, pozitif prediktif değeri %95.11, negatif prediktif değeri %95.80 ve doğruluk oranı ise %92.58 olarak tespit edildi.

Fransa'da, Miedouge ve arkadaşlarının (111) hemodiyaliz hastalarında yaptıkları araştırmada, 98 HCV RNA pozitif örneğin 90'ında HCV antijeni pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu araştırmada, HCV-RNA viral yük düzeylerine göre, kor antijen pozitiflik yüzdeleri; 0-2000 IU/mL olanların %53.8'ü, 2001-6000 IU/mL olanların %88.2'si, 6000 IU/mL ve üzeri HCV RNA konsantrasyonuna sahip olan örneklerin %100 olarak saptanmıştır. HCV RNA pozitif 90 örnekle HCV kor antijen arasındaki korelasyon anlamlı bulunmuş ve bu testin duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %99.2 olarak bildirilmiştir. Keşli ve arkadaşları (112) ise HCV kor antijen testinin duyarlılığını %96.3, özgüllüğünü %100, pozitif prediktif değeri %100 ve negatif prediktif değerini ise %89.7 olarak bildirmişlerdir.

HCV kor antijen testinin HCV RNA analizlerine benzer gösterdiği performans, HCV kor tayininin, akut enfeksiyonlarda serolojik pencere dönemini kısaltmak ve ayrıca antiviral tedaviyi izlemek için viral yük ölçümüne alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir (113).

HCV kor antijen testi literatürde yüksek duyarlılık ve özgüllük oranları sergilemiş, kolay uygulanabilir bir yöntem olarak görünmektedir(114). Bu nedenle HCV enfeksiyonunun tanı ve takibinde HCV RNA testine alternatif bir yöntem olarak, tanı koydurucu, doğrulayıcı ve tamamlayıcı olabilir(115). Literatürden elde edilen bu sonuçlar beraber değerlendirildiğinde HCV enfeksiyonunun tanı ve takibinde tüm yöntemlerin göz önünde bulundurulması, avantaj ve dezavantajlarının bilinmesi, hangi testin hastalığın hangi döneminde ve tanıda hangi aşamada kullanılması gerektiğinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu nedenle HCV kor antijen

testinin HCV RNA'ya alternatif olarak kesin tanı ve tedavinin takip süreçlerinde fiyatının da daha uygun olması ve kısa sürede sonuç vermesi de göz önüne alındığında, güvenle kullanılabileceğini görüşüyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

HCV enfeksiyonu, hastaların önemli bir kısmında siroz ve son dönem karaciğer hastalığına ilerleyebilen küresel bir sağlık sorunudur (116). Enfeksiyonu tedavi etmek ve komplikasyonları azaltmak için gittikçe daha etkili ve daha iyi tolere edilebilen ajanlar mevcut hale gelmektedir (117). Sıklıkla asemptomatik olduğundan, birçok kişi kronik HCV ile enfekte olduğunu bilmemektedir. Asemptomatik enfekte bireylerin tespit edilmemesi, HCV'nin başarılı kontrolü için büyük bir engeldir. Bu nedenle, HCV ile enfekte olma olasılığını arttırmış asemptomatik hastaları taramak, enfekte olmuş kişilerin tespit edilmesini ve nihayetinde tedavinin iyileştirilmesinde önemli bir adımdır (118).

HCV enfeksiyonunun tanısında ve tedavisinin takip sürecinde uygulanan tüm testlerin avantaj ve dezavantajları göz önüne alınarak, hangi testin hastalığın hangi döneminde ve tanıda hangi aşamada kullanılması gerektiğinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Günümüzde kan donörlerinin taramasında ve HCV şüpheli hastaların tanı ve tedavi takibinde laboratuvar tanı tipik olarak bir antikor testiyle başlar. Anti HCV pozitif olan hastalarda doğrulama HCV RNA testi ile yapılmaktadır. Lakin yanlış negatif antikor testi olasılığı yüksek olan hastalarda (ciddi şekilde immün sistemi baskılanmış veya hemodiyaliz hastaları veya akut hepatit C olduğundan şüphelenenler) HCV RNA ile eşzamanlı incelenmesi gerekmektedir (119).

Anti HCV antikor tespiti bir tarama testi olup, duyarlılığı yüksek olsa da özgüllüğü düşük olması, özellikle yanlış pozitifliğin artması nedeniyle tamamlayıcı bir teste ihtiyaç duyulmaktadır. Tamamlayıcı test olarak özgüllüğü yüksek immun blot testleri kullanılmaktadır. Fakat bu testlerden çıkan şüpheli sonuçlarında HCV RNA ile doğrulanması gerekmektedir (120).

HCV RNA testi altın standart yöntem olmasına rağmen, maliyetinin yüksek ve zaman alıcı olması ayrıca tam donanımlı merkez ve deneyimli teknik personele ihtiyaç duyulması gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır.

Bizim araştırmamızın temelini oluşturan, HCV enfeksiyonlarının kesin laboratuvar tanısında tanı değerini araştırdığımız HCV kor antijen testi bir EIA

yöntemidir. Sınırlı kaynak veya HCV RNA testinin erişilemediği durumlarda HCV kor antijen testi, HCV RNA'ya hem tanı hem de hastalığın takibi açısından iyi bir alternatif testtir.

HCV kor antijen testi yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir tanı yöntemidir. HCV kor antijen testinin diğer avantajları ise: enfeksiyon varlığı Anti HCV testine göre daha erken belirlenmesi, HCV RNA testlerine göre daha ucuz olması ve özel donanımlı laboratuvar ve teknik personele ihtiyaç duyulmaması olarak sıralanabilir.

Sonuç olarak HCV kor antijen testi; HCV enfeksiyonunun kesin tanı ve tedavisinin takibi sürecinde, ayrıca Anti-HCV antikor pozitif test sonuçlarının doğrulanmasında kullanılabilir, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, uygulanması kolay, maliyet-etkin, güvenilir bir testtir.

KAYNAKLAR

1. Yee T, Griffioen A, Sabin CA, Dusheiko G, Lee CA. The natural history of HCV in a cohort of haemophilic patients infected between 1961 and 1985. *Gut*. 2000; 47(6), 845-851.
2. Murray PR, Rosenthal KS, Praller MA. *Medical microbiology*. Elsevier Health Sciences; 2015.
3. Barut HŞ, Günal Ö. Dünyada ve ülkemizde hepatit C epidemiyolojisi. *Klimik Dergisi*. 2009; 22(2), 38-43.
4. Chopra S, Arora S. Patient evaluation and selection for antiviral therapy for chronic hepatitis C virus infection. *UpToDate*, Bloom, A (Ed), UpToDate, Waltham, MA. Accessed on January, 28. 2015.
5. Getchell JP, Wroblewski KE, DeMaria JrA, Bean CL, Parker MM, Pandori M, Pesano RL. Testing for HCV infection: an update of guidance for clinicians and laboratorians. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*. 2013; 62(18).
6. Cresswell FV, Fisher M, Hughes DJ, Shaw SG, Homer G, Hassan-Ibrahim MO. Hepatitis C core antigen testing: a reliable, quick, and potentially cost-effective alternative to hepatitis C polymerase chain reaction in diagnosing acu. 2014.
7. PetruzzIELlo A, Marigliano S, Loquercio G, Cozzolino A, Cacciapuoti C. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World journal of gastroenterology*. 2016. .
8. Lanini S, Easterbrook PJ, Zumla A, Ippolito G. Hepatitis C: global epidemiology and strategies for control. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016; 22(10), 833-838.
9. Mauger DM, Golden M, Yamane D, Williford S, Lemon SM, Martin DP, Weeks KM. Functionally conserved architecture of hepatitis C virus RNA genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015; 112(12), 3692-3697.
10. Suzuki T. Morphogenesis of infectious hepatitis C virus particles. *Frontiers in microbiology*, 2012; 3: 38.

11. Lloyd AR, Jagger E, Post JJ, Crooks LA, Rawlinson WD, Hahn YS, Ffrench RA. Host and viral factors in the immunopathogenesis of primary hepatitis C virus infection. *Immunology and cell biology*. 2007; 85(1), 24-32. .
12. Ustaçelebi Ş. Ergünay K. Hepatit C virusu. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S (eds.), *Moleküler, klinik ve tanısal viroloji*. 2007; 1, 203-209.
13. Sillanpää M, Melén K, Porkka P, Fagerlund R, Nevalainen K, Lappalainen M, Julkunen I. Hepatit C virüs çekirdeği, NS3, NS4B ve NS5A, kronik HCV enfeksiyonunda humoral immünyetede majör immünojenik proteinlerdir. *Viroloji dergisi*. 2009; 6 (1), 84.
14. Masaki T, Suzuki R, Murakami K, Aizaki H, Ishii K, Murayama A, Suzuki T. Interaction of hepatitis C virus nonstructural protein 5A with core protein is critical for the production of infectious virus particles. *Journal of virology*. 2008; 82(16), 7964-7976.
15. Chien DY, Choo QL, Tabrizi A, Kuo C, McFarland J, Berger K, Moyer DL. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection using an immunodominant chimeric polyprotein to capture circulating antibodies: reevaluation of the role of HCV in liver disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992; 89(21), 10011-10015.
16. Omrani M. D, Khadem Ansari MH. Hepatitis c virus genotyping by melting curve analysis in west azerbaijan, northwest of IRAN. *Hepatitis Monthly*. 2009; 9(2), 133-136.
17. Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, Panis M, You H, De Jong YP, Rice CM. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature*. 2009; 457(7231), 882.
18. Forghieri F, Luppi M, Barozzi P, Maffei R, Potenza L, Narni F, Marasca R. Pathogenetic mechanisms of hepatitis C virus-induced B-cell lymphomagenesis. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012.
19. Hoffman B, Liu Q. Hepatitis C viral protein translation: mechanisms and implications in developing antivirals. *Liver International*. 2011; 31(10), 1449-1467.

20. Frese M, Barth K, Kaul A, Lohmann V, Schwärzle V, Bartenschlager R. Hepatitis C virus RNA replication is resistant to tumour necrosis factor- α . *Journal of General Virology*. 2003; 84(5), 1253-1259.
21. Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, Panis M, You H, De Jong Y P, Rice CM. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature*. 2009; 457(7231), 882.
22. Reiss S, Rebhan I, Backes P, Romero-Brey I, Erfle H, Matula P, Longerich T. Recruitment and activation of a lipid kinase by hepatitis C virus NS5A is essential for integrity of the membranous replication compartment. *Cell host & microbe*. 2011; 9(1), 32-45.
23. Kapadia SB, Brideau-Andersen A, Chisari FV. Interference of hepatitis C virus RNA replication by short interfering RNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003; 100(4), 2014-2018.
24. Hoshida Y, Fuchs B C, Bardeesy N, Baumert TF, Chung RT. Pathogenesis and prevention of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*. 2014; 61(1), S79-S90.
25. Heim MH. Innate immunity and HCV. *Journal of hepatology*. 2013; 58(3), 564-574.
26. PetruzzIELLO A, Coppola, N, Loquercio G, Marigliano S, Giordano M, Azzaro R, Di Meo T. Distribution pattern of hepatitis C virus genotypes and correlation with viral load and risk factors in chronic positive patients. *Intervirology*. 2014; 57(6), 311-318.
27. CDC 2013. *Hepatology* 2013; 57:1333-1342.
28. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clinical Microbiology and Infection*. 2011; 17(2), 107-115.
29. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *Journal of hepatology*. 2014; 61(1), S45-S57.

30. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013; 57(4), 1333-1342.
31. Chakravarti, A, Ashraf A, Malik S. A study of changing trends of prevalence and genotypic distribution of hepatitis C virus among high risk groups in North India. *Indian journal of medical microbiology*. 2013; 31(4), 354.
32. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(17): 2436–41.
33. Bruggmann P, Berg T, Ovrehus ALH, Moreno C, Brandão Mello CE, Roudot-Thoraval F, Akarca U. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *Journal of viral hepatitis*. 2014; 21, 5-33.
34. Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2013;10(9), 553.
35. Mühlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, Sroczynski G, Zeuzem S, Siebert U. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC public health*. 2009; 9(1), 34.
36. Us T, Kasifoglu N, Aslan FG, Aslan M, Akgun Y, Durmaz G. The distribution of hepatitis C virus genotypes of patients with chronic hepatitis C infection in the Eskisehir region of Turkey. *Journal of clinical and analytical medicine*. 2017; 8(2), 88-91.
37. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *The Lancet infectious diseases*. 2005; 5(9), 558-567.
38. Yurtsever SG, Güngör S, Afşar İ, Şener AG, Kurultay N, Türker M. Preoperatif dönemdeki hastalarda HbSAg, Anti-HCV, Anti-HIV pozitiflik oranları. *Prevalance*. 2009; 19, 24.
39. Kurtoğlu MG, Bozkurt H, Keşli R, Berктаş MHC. Virus Seroprevalansının Yaş, Cinsiyet ve Hemodiyaliz Süresi ile İlişkisi. *Viral Hepatit Dergisi*. 2006; 11(3), 142-7.

40. Yan Z, Fan K, Wang Y, Fan Y, Tan Z, Deng G. Changing pattern of clinical epidemiology on hepatitis C virus infection in southwest china. *Hepatitis monthly*. 2012; 12(3), 196.
41. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, Orum H. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*. 2010; 327(5962), 198-201.
42. Gökahmetoğlu S, Bozdayı M, Özbakır Ö, Aygen B, Özbal Y, Soyuer I, Yıldız O. Hepatitis C virus genotypes detected in Erciyes University. *Journal of Turkish Society of Microbiology*. 2007; 37, 35-8.
43. Blackard JT, Ma G, Welge JA, Martin CM, Sherman KE, Taylor LE, et al. Analysis Of A Non-Structural Gene Reveals Evidence of Possible Hepatitis C Virus (HCV) compartmentalization. *J Med Virol*. 2012; 84(2): 242–52.
44. Hill AM, Nath S, Simmons B. The road to elimination of hepatitis C: analysis of cures versus new infections in 91 countries. *Journal of virus eradication*. 2017; 3(3), 117.
45. Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of HCC: consider the population. *Journal of clinical gastroenterology*. 2013; 47, S2.
46. Jonas G, Pelzer C, Beckert C, Hausmann M, Kapprell HP. Performance characteristics of the ARCHITECT® Anti-HCV assay. *Journal of clinical virology*. 2005; 34(2), 97-103.
47. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2012; 142(6), 1264-1273.
48. Depla M, d'Alteroche L, Le Gouge A, Moreau A, Hourieux C, Meunier JC, Avargues A. Viral sequence variation in chronic carriers of hepatitis C virus has a low impact on liver steatosis. *PloS one*. 2012; 7(3), e33749.
49. Holland CA, Yong MA, Moscicki AB, Durako SJ, Levin L, Wilson CM. Seroprevalence and risk factors of hepatitis B, hepatitis C, and human cytomegalovirus among HIV-infected and high-risk uninfected adolescents: findings of the REACH Study. *Sexually transmit*.

50. Zhu N, Ware CF, Lai MM. Hepatitis C virus core protein enhances FADD-mediated apoptosis and suppresses TRADD signaling of tumor necrosis factor receptor. *Virology*. 2001; 283(2), 178-187.
51. Chen SL, Morgan TR. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *International journal of medical sciences*. 2006; 3(2), 47.
52. Liang TJ, Heller T. Pathogenesis of hepatitis C—associated hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004; 127(5), S62-S71.
53. Sainz JrB, Barretto N, Uprichard S. L. Hepatitis C virus infection in phenotypically distinct Huh7 cell lines. *PloS one*. 2009; 4(8), e6561. .
54. Estrabaud E, Vidaud M, Marcellin P, Asselah T. Genomics and HCV infection: progression of fibrosis and treatment response. *Journal of hepatology*. 2012; 57(5), 1110-1125.
55. Erensoy S. Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection and laboratory monitoring of its therapy. *Journal of clinical virology*. 2001; 21(3), 271-281.
56. Pawlotsky JM, Prescott L, Simmonds P, Pellet C, Laurent-Puig P, Labonne C, et al. Serological determination of hepatitis C virus genotype: comparison with a standardized genotyping assay. *J Clin Microbiol*. 1997; 35(7): 1734–9. .
57. Alberti A, Morsica G, Chemello L, Cavalletto D, Noventa F, Pontisso P, Ruol A. Hepatitis C viraemia and liver disease in symptom-free individuals with anti-HCV. *The Lancet*. 1992; 340(8821), 697-698. .
58. Craxì A, Laffi G, Zignego AL. Hepatitis C virus (HCV) infection: a systemic disease. *Molecular aspects of medicine*. 2008; 29(1-2), 85-95. .
59. Kesli R, Polat H, Terzi Y, Kurtoglu MG, Uyar Y. Comparison of a newly developed automated and quantitative hepatitis C virus (HCV) core antigen test with the HCV RNA assay for clinical usefulness in confirming anti-HCV results. *Journal of clinical microb*.
60. Vermehren J, Schlosser B, Domke D, Elanjimattom S, Müller C, Hintereder G, Walcher F. High prevalence of anti-HCV antibodies in two metropolitan emergency

departments in Germany: a prospective screening analysis of 28,809 patients. *PloS one*. 2012; 7(7), e.

61. Gretch DR. Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology*. 1997; 26(S3), 43S-47S.
62. Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Levey AS. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *New England Journal of Medicine*. 1991; 325(7), 454-460.
63. Seme K, Poljak M, Babič DZ, Močilnik T, Vince A. The role of core antigen detection in management of hepatitis C: a critical review. *Journal of clinical virology*. 2005; 32(2), 92-101.
64. Hosseini-Moghaddam SM, Iran-Pour E, Rotstein C, Husain S, Lilly L, Renner E, Mazzulli T. Hepatitis C core Ag and its clinical applicability: Potential advantages and disadvantages for diagnosis and follow-up? *Reviews in medical virology*. 2012; 22(3), 156.
65. Liu J, Ding X, Tang J, Cao Y, Hu P, Zhou F, Zhang B. Enhancement of canonical Wnt/ β -catenin signaling activity by HCV core protein promotes cell growth of hepatocellular carcinoma cells. *PloS one*. 2011; 6(11), e27496.
66. Curry MP, Forns X, Chung RT, Terrault NA, Brown Jr R, Fenkel JM, Everson G. Sofosbuvir and ribavirin prevent recurrence of HCV infection after liver transplantation: an open-label study. *Gastroenterology*. 2015; 148(1), 100-107.
67. Laperche S, Le Marrec N, Girault A, Bouchardeau F, Servant-Delmas A, Maniez-Montreuil M, Simon N. Simultaneous detection of hepatitis C virus (HCV) core antigen and anti-HCV antibodies improves the early detection of HCV infection. *Journal of clinical mic*.
68. Freiman JM, Tran TM, Schumacher SG, White LF, Ongarello S, Cohn J, Denkinger CM. Hepatitis C core antigen testing for diagnosis of hepatitis C virus infection: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine*. 2016; 165(5), 345-355.
69. Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. *Clinical infectious diseases*. 2012; 55(suppl_1), S43-S48.

70. Charlton M, Everson GT, Flamm SL, Kumar P, Landis C, Brown Jr RS, Kuo A. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin for treatment of HCV infection in patients with advanced liver disease. *Gastroenterology*. 2015;149(3), 649-659.
71. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*. 2004; 39(4), 1147-1171.
72. Chevaliez S, Pawlotsky JM. Hepatitis C virus: virology, diagnosis and management of antiviral therapy. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2007; 13(17), 2461.
73. Scott JD, Gretch DR. Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: a systematic review. *Jama*. 2007; 297(7), 724-732.
74. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009; 49(4), 1335-1374.
75. Dragomiretskaya N, Izha A, Kalinichenko N, Szark-Eckardt M, Klimczyk M, Cieślicka M, Zukow W. Use of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Open Medicine*. 2015; 10(1).
76. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Ito Y. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nature genetics*. 2009; 41(10), 1105.
77. Ural O, Arslan U, Fındık D. Konya Bölgesinde Hepatit C Virusu Genotip Dağılımı. *İnfeksiyon Dergisi*. 2007; 21 (4): 175–181.
78. Kurosaki M, Enomoto N, Murakami T, Sakuma I, Asahina Y, Yamamoto C, Sato C. Analysis of genotypes and amino acid residues 2209 to 2248 of the NS5A region of hepatitis C virus in relation to the response to interferon- β therapy. *Hepatology*. 1997; 25(3), 75.
79. Gao M, Nettles RE, Belema M, Snyder LB, Nguyen VN, Fridell RA, Lemm JA. Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature*. 2010; 465(7294), 96.
80. Hirotsu Y, Kanda T, Matsumura H, Moriyama M, Yokosuka O, Omata M. HCV NS5A resistance-associated variants in a group of real-world Japanese patients

chronically infected with HCV genotype 1b. *Hepatology international*. 2015; 9(3), 424-430.

81. Us T, Kaşifoğlu N, Aslan FG, Aslan M, Akgün Y, Durmaz G. The Distribution of Hepatitis C Virus Genotypes of Patients with Chronic Hepatitis C Infection in the Eskisehir Region of Turkey Kronik Hepatit C Enfeksiyonlu Hastalarda Hepatit C Virüs Genotiplerin.

82. Frey SE, Houghton M, Coates S, Abrignani S, Chien D, Rosa D, Hill H. Safety and immunogenicity of HCV E1E2 vaccine adjuvanted with MF59 administered to healthy adults. *Vaccine*. 2010; 28(38), 6367-6373.

83. Folgari A, Capone S, Ruggeri L, Meola A, Sporeno E, Ercole BB, Lahm A. A T-cell HCV vaccine eliciting effective immunity against heterologous virus challenge in chimpanzees. *Nature medicine*. 2006; 12(2), 190.

84. Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, Bartenschlager R. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nature medicine*. 2005; 11(7), 791.

85. Chaib E, de Oliveira MF, Galvão F, Silva FD, D'Albuquerque L, Massad E. Theoretical impact of an anti-HCV vaccine on the annual number of liver transplantation. *Medical hypotheses*. 2010; 75(3), 324-327.

86. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, Ahmed A. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. 2015; 148(3), 5.

87. Midgard H, Weir A, Palmateer N, Re III VL, Pineda JA, Macías J, Dalgard O. HCV epidemiology in high-risk groups and the risk of reinfection. *Journal of hepatology*. 2016; 65(1), S33-S45.

88. Kanwal F, Bacon BR, Beste LA, Brill JV, Gifford AL, Gordon SC, Younossi ZM. Hepatitis C Virus Infection Care Pathway—A Report From the American Gastroenterological Association Institute HCV Care Pathway Work Group. *Gastroenterology*. 2017; 152(6), 1588-159.

89. Tuailleon E, Mondain AM, Meroueh F, Ottomani L, Picot MC, Nagot N, Ducos J. Dried blood spot for hepatitis C virus serology and molecular testing. *Hepatology*. 2010; 51(3), 752-758.
90. Poordad F, McCone Jr J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, DiNubile M J. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *New England Journal of Medicine*. 2011; 364(13), 1195-1206.
91. Cresswell FV, Fisher M, Hughes DJ, Shaw SG, Homer G, Hassan-Ibrahim MO. Hepatitis C core antigen testing: a reliable, quick, and potentially cost-effective alternative to hepatitis C polymerase chain reaction in diagnosing acute hepatitis C virus infectious diseases, *60(2)*, 263-266.
92. Thomson EC, Nastouli E, Main J, Karayiannis P, Eliahoo J, Muir D, McClure MO. Delayed anti-HCV antibody response in HIV-positive men acutely infected with HCV. *AIDS (London, England)*. 2009; 23(1), 89.
93. Acar A, Kemahli S, Altunay H, Kosan E, Oncul O, Gorenek L, Cavuslu S. HBV, HCV and HIV seroprevalence among blood donors in Istanbul, Turkey: how effective are the changes in the national blood transfusion policies? *Braz J Infect Dis*. 2010; 14(1):41–6.
94. Demircili ME, Özdemir M, Feyzioglu B, BAYSAL B. The efficiency of hepatitis C virus core antigen test in the diagnosis of hepatitis C infection. *Viral Hepatit Dergisi*. 2016; 22(1).
95. Carneiro MA, Martins RM, Teles SA, Silva SA, Lopes CL, Cardoso DD, et al. Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in Central Brazil: a survey by polymerase chain reaction and serological methods. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001; 96(6).
96. Munir S, Saleem S, Idrees M, Tariq A, Butt S, Rauff B, Ali M. Hepatitis C treatment: current and future perspectives. *Virology journal*. 2010; 7(1), 296.
97. Miedouge M, Saune K, Kamar N, Rieu M, Rostaing L, Izopet J. Analytical evaluation of HCV core antigen and interest for HCV screening in haemodialysis patients. *Journal of Clinical Virology*. 2010; 48(1), 18-21.

98. Bouvier-Alias M, Patel K, Dahari H, Beaucourt S, Larderie P, Blatt L, McHutchison JG. Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker of HCV replication. *Hepatology*. 2002; 36(1), 211-218.
99. Sosa-Jurado F, Santos-López G, Guzmán-Flores B, Ruiz-Conde JI, Meléndez-Mena D, Vargas-Maldonado MT, Reyes-Leyva J. Hepatitis C virus infection in blood donors from the state of Puebla, Mexico. *Virology journal*. 2010; 7(1), 18.
100. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, Messinger D. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006; 43(6), 1317-1325.
101. Ali A, Ahmed H, Idrees M. Molecular epidemiology of Hepatitis C virus genotypes in Khyber Pakhtoonkhaw of Pakistan. *Virology Journal*. 2010; 7(1), 203.
102. Yuksel P, Caliskan R, Ergin S, Aslan M, Celik DG, Saribas S, Ziver T, Yalciner A, Kocazeybek B. New approaches to in vitro diagnosis of hepatitis C infection a reason for post transfusion hepatitis: Diagnostic value of determination of hepatitis C virus core antigen. *Transfusion and Apheresis Science*. 2011; 45(3), 247-250.
103. Ergünay K, Sener B, Alp A, Karakaya J, Haşçelik G. Utility of a commercial quantitative hepatitis C virus core antigen assay in a diagnostic laboratory setting. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 70(4): 486–91.
104. Roth WK, Weber M, Buhr S, Drosten C, Weichert W, Sireis W, Seifried E. Yield of HCV and HIV-1 NAT after screening of 3.6 million blood donations in central Europe. *Transfusion*. 2002; 42(7), 862-868.
105. Chang C, Hung CH, Wang JH, Lu SN. Hepatitis C core antigen highly correlated to HCV RNA. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2018; 34(12), 684-688.
106. Mederacke I, Potthoff, A, Meyer-Olson D, Meier M, Raupach R, Manns MP, Tillmann HL. HCV core antigen testing in HIV-and HBV-coinfected patients, and in HCV-infected patients on hemodialysis. *Journal of Clinical Virology*. 2012; 53(2), 110-115.
107. Özdemir M, Altindis M. Improvement and New Aspects of HCV Testing for Clinical Management. *Viral Hepatit Dergisi*. 2013; 19(3).

108. Ottiger C, Gygli N, Huber AR. Detection limit of architect hepatitis C core antigen assay in correlation with HCV RNA, and renewed confirmation algorithm for reactive anti-HCV samples. *Journal of Clinical Virology*. 2013; 58(3), 535-540.
109. Lamoury FM, Soker A, Martinez D, Hajarizadeh B, Cunningham EB, Cunningham P, Conway B. Hepatitis C virus core antigen: a simplified treatment monitoring tool, including for post-treatment relapse. *Journal of Clinical Virology*. 2017; 92, 32-38.
110. Ergünay K, Sener B, Alp A, Karakaya J, Hasçelik G. Utility of a commercial quantitative hepatitis C virus core antigen assay in a diagnostic laboratory setting. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011; 70(4): 486–91.
111. Miedouge M, Saune K, Kamar N, Rieu M, Rostaing L, Izopet J. Analytical evaluation of HCV core antigen and interest for HCV screening in haemodialysis patients. *Journal of Clinical Virology*. 2010; 48(1), 18-21.
112. Kesli R. An overview of the laboratory assay systems and reactivities used in the diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infections. In Abuelzein E ed. *Trends in Immunolabelled and Related Techniques*. InTech Publishing House, Rijeka, Croatia; 2012. p:339-350.
113. Van Tilborg M, Al Marzooqi SH, Wong WW, Maan R, Vermehren J, Maasoumy B, Flud CR. HCV core antigen as an alternative to HCV RNA testing in the era of direct-acting antivirals: retrospective screening and diagnostic cohort studies. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2018; 3(12), 856-864.
114. Medici MC, Furlini G, Rodella A, Fuertes A, Monachetti A, Calderaro A, Costantini A. Hepatitis C virus core antigen: analytical performances, correlation with viremia and potential applications of a quantitative, automated immunoassay. *Journal of Clinical Virology*. 2011; 51(4), 264-269.
115. Rockstroh JK, Feld JJ, Chevaliez S, Cheng K, Wedemeyer H, Sarrazin C, Dawson GJ. HCV core antigen as an alternate test to HCV RNA for assessment of virologic responses to all-oral, interferon-free treatment in HCV genotype 1 infected patients. *Journal of virological methods*. 2017; 245, 14-18.

116. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, Crespi C, Bolondi L, Caraceni P, Andreone P. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. *Journal of hepatology*. 2016; 65(4), 727-733.
117. Sarrazin C. The importance of resistance to direct antiviral drugs in HCV infection in clinical practice. *Journal of hepatology*. 2016; 64(2), 486-504.
118. Ibrahim I, Salah H, El Sayed H, Mansour H, Eissa A, Wood J, Dickerson F. Hepatitis C virus antibody titers associated with cognitive dysfunction in an asymptomatic community-based sample. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*. 2016; 38(8), 861-868.
119. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, Cargnel A, Benhamou Y, Peters M, Rockstroh J. Care of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV–HIV International Panel. *Aids*. 2007; 21(9), 1073-1089.
120. Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M, Fitzmaurice C, Vos T, Abubakar I, Forouzanfar MH. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*. 2016; 388(10049), 1081-1088.

