

Hemodiyaliz, Periton Diyalizi ve Prediyaliz Hastalarda Gizli Hepatit B Enfeksiyonunun Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi ile Araştırılması

The Investigation of Occult Hepatitis B Infection in Hemodialysis, Peritoneal Dialysis, and Predialysis Patients by the Polymerase Chain Reaction Method

Mürüvvet DOĞUKAN¹, Ahmet KİZİRGİL¹, Ayhan DOĞUKAN²

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Elazığ, Türkiye

² Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nefroloji BD, Elazığ, Türkiye

Yazışma Adresi: Ayhan DOĞUKAN
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nefroloji BD, Elazığ, Türkiye
Tel: 0(424)233 35 55
E-posta: aydogukan@hotmail.com

Geliş Tarihi: 06.03.2009, Kabul Tarihi: 19.03.2009

ÖZ

Serumda hepatit B yüzey antijeninin (HBsAg) negatif olduğu durumlarda, hepatit B virüsü DNA (HBV-DNA)'sının varlığı gizli hepatit B olarak bilinmektedir. Gizli hepatit B'nin prevalansı tam olarak bilinmemesine rağmen, hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastalarda daha sık olduğunu bildiren çok sayıda araştırma vardır. Bu çalışmada, hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları ile kronik böbrek yetersizliği olup henüz diyaliz tedavisi başlanmamış hastalarda (prediyaliz) gizli hepatit B prevalansı araştırıldı. Çalışmaya HBsAg-negatif olan toplam 174 hasta alındı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile hemodiyaliz hastalarının %2.6'sında, periton diyalizi hastalarının %1.8'inde HBV-DNA varlığı saptandı. Buna karşılık, prediyalitik hastalarda gizli hepatit B enfeksiyonu saptanmadı. Gizli HBV enfeksiyonu saptanan hastalarla diğer hastalar arasında karaciğer enzimlerinin yüksekliği ve serum C-reaktif protein seviyesi yönünden anlamlı düzeyde farklılık saptanmadı. Sonuç olarak, çalışmamızda hemodiyaliz uygulanan hastalarda gizli HBV enfeksiyonunun düşük sıklıkla olsa da görülebileceği saptanmıştır. Hem hemodiyaliz hem de periton diyalizi uygulanan hastalara cihaz kaynaklı HBV bulaşımını önlemek için sadece serolojik testlerle virüs varlığının araştırılmasının yeterli olamayacağı, PZR gibi duyarlılığı daha yüksek testlerle bu hastaların taranmasının uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Hemodiyaliz, Peritoneal diyaliz, Prediyaliz, Gizli hepatit B, Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

ABSTRACT

The presence of hepatitis B virus DNA in case of negative hepatitis B surface antigen in serum is known as occult hepatitis B. Although the exact prevalence is not known, there are many reports indicating that occult hepatitis B is more frequently encountered in patients undergoing hemodialysis treatment. The aim of this study was to investigate the prevalence of occult hepatitis B in patients on hemodialysis or peritoneal dialysis, or with predialytic chronic renal failure. A total of 174 HBsAg-negative sera were included in the study. HBV-DNA was detected by polymerase chain reaction (PCR) in 2.6% of hemodialysis patients and 1.8% of peritoneal dialysis patients. In contrast, there was no occult hepatitis B virus infection in non-dialyzed patients with chronic renal failure. According to the liver enzymes and serum C-reactive protein levels, there was no statistically difference between the occult hepatitis B positive patients and the negative patients. In conclusion, although the rate was low, occult hepatitis B infections was detected among dialysis patients in our study. Therefore, despite serological analysis, both hemodialysis and peritoneal dialysis patients should be screened for occult HBV infections with a more sensitive test such as PCR, in order to prevent the dialysis-mediated transmission risk of HBV infection.

KEY WORDS: Hemodialysis, Peritoneal dialysis, Predialysis, Occult hepatitis B, Polymerase chain reaction (PCR)

GİRİŞ

Hepatit B virüsü (HBV), kronik karaciğer hastalığının en önemli nedenlerinden biri olup, tüm dünyada ciddi bir morbidite ve mortalite sebebidir (1). Hepatit B virüs enfeksiyonunun bulaş yollarından en önemlisi kan ve kan ürünlerinin transfüzyonudur. Dolayısıyla, HBV diyaliz ortamında çok kolay yayılabilen bir viral etkenidir. Amerika Birleşik Devletleri “Hastalıkları Kontrol Merkezi”nin Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg)-pozitif hastalar ile HBsAg-negatif hastaların farklı makinelerde diyalize alınması, enstrümanların ve personelin özel olması ve genel hijyen kurallarına uyulması gibi önerilerinin uygulanmasıyla hemodiyaliz ünitelerinde HBsAg prevalansı hızlı bir düşüş göstermiştir (2). Ülkemizde, Türk Nefroloji Derneği Kayıt Sistemi raporlarına göre, 2004 yılında hemodiyaliz hastalarında HBsAg pozitifliği oranı % 4,9’dur (3). Bu hastalarda hepatit B prevalansının yüksek olmasında genel hijyenik kuralların yeterince uygulanamaması dışında immün direncin zayıf olması da önemli rol oynamaktadır (4). Enfeksiyonun belirlenmesinde serolojik göstergelerin saptanması önemli olmakla birlikte, yetersiz de kalabilmektedir. Kendiliğinden veya tedavi ile serolojik olarak HBsAg’si kaybolan bazı hastalarda serum ve/veya karaciğerde hassas PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) teknikleri ile düşük düzeyde Hepatit B virüs DNA (HBV-DNA) varlığı gösterilmiştir (5). Böylece saptanamayan HBsAg ile birlikte kronik HBV enfeksiyonunu tanımlayan bu yeni durum gizli (okült) HBV enfeksiyonu olarak adlandırılmaktadır (6). Bu hastalarda serum HBV-DNA seviyesi genellikle 104 kopya/ml’den düşüktür (5,7). Gizli HBV enfeksiyonlarının, kriptojenik hepatit ve hepatosellüler karsinom olgularında daha sık gözlemlendiği bildirilmekle birlikte, hemodiyaliz ve transplantasyon uygulamaları gibi faktörlerin de etkili olabildiği ifade edilmiştir (6,8).

Bugünkü yeni değerlendirmelerin ışığı altında, PZR gibi hassas testlerin gelişmesi ile gizli HBV enfeksiyonu tanımlaması yapılmıştır. Serolojik göstergeleri negatif olgularda, HBV enfeksiyonunun kesin tanısı için en duyarlı yöntemlerden biri olarak HBV-DNA’nın incelenmesi önerilmektedir (9). Bu çalışmada hemodiyaliz, periton diyalizi ve prediyaliz hastalarında gizli HBV varlığının PZR ile tanımlanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvurmuş ve tedavileri yapılmakta olan hemodiyaliz, periton diyalizi ve prediyaliz hastalarında gizli HBV enfeksiyonunun araştırılması planlandı. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunca onaylanan bu çalışma (FÜBAP, Proje no:1289), Fırat Üniversitesi

Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ile Nefroloji Bilim Dalı’nın ortak katkılarıyla gerçekleştirildi. Hemodiyaliz, periton diyalizi ve prediyaliz hastalarının serumlarında PZR yöntemi ile HBV-DNA varlığı araştırıldı.

Hastaların Seçimi

Kronik böbrek yetersizliği nedeniyle Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Diyaliz Ünitesinde hemodiyaliz tedavisi alan 81 hasta, daha önce kronik hemodiyaliz tedavisi uygulanmadan sürekli ayaktan periton diyalizi tedavisi alan 59 hasta ve çeşitli derecelerde kronik böbrek yetersizliği olan ancak henüz diyaliz tedavisine başlanmamış ve Nefroloji polikliniğince takip edilen 46 hasta, rastgele yöntemle önceki hepatit profiline bakılmaksızın çalışmaya alındı.

Serum Örneklerinin Toplanması

Hastaların rutin kontrolleri sırasında Hepatit B ve C virus belirteçleri (HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, anti-HBs, anti-HCV) aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), üre, kreatinin değerlerinin belirlenmesi ve (HBV-DNA) incelenmesi için 5 ml periferik venöz kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri, 2500 rpm’de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Hepatit belirteçleri ve biyokimyasal parametreler çalışıldıktan sonra serum örnekleri DNA izolasyonu yapılmaya kadar -200C’de saklandı.

DNA İzolasyonu

Hepatit B yüzey antijeni negatif olan hastalara ait serum örneklerinde gizli hepatit B enfeksiyonu varlığını araştırmak için DNA izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonu için Gen Elute Mammalian Genomic DNA Miniprep Kiti (GenElute, Sigma-Aldrich, USA) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. İzolasyon protokolü sonunda elde edilen pellet PZR için kalıp DNA olarak kullanıldı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Serum örneklerinde HBV-DNA varlığı; HBV’nin S gen bölgesine spesifik, genomun 259 bç’lik bölümünü saptayan primerler (sens; 5’ CAA GGT ATG TTG CCC GTT TG 3’) ve (antisens; 5’ AAA GCC CTG CGA ACC ACT GA 3’) kullanılarak PZR ile araştırıldı. Her bir örnek için 0,5ml eppendorf tüplerinde toplam 50µl olacak şekilde; 5µl tampon, 5µl MgCl₂, 4µl dNTP, her bir primerden 2µl, 0.5µl Taq DNA polimeraz, 23,5µl dH₂O ve 10µl kalıp DNA’dan oluşan PZR karışımı hazırlandı (10). DNA izolasyonu ve PZR esnasında, her aşamada negatif ve pozitif kontroller kullanıldı. Pozitif kontrol olarak HBV-DNA yönünden pozitif olduğu önceden bilinen serum örneklerine ait DNA; negatif kontrol

olarak ise, steril distile su kullanıldı. Karışım hazırlanan tüpler ısısal döngü cihazına (AB Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler) konularak ilk aşamada bir kez 940C'de 2 dakika tutuldu. Daha sonra her bir döngü için 940C'de bir dakika, 520C'de bir dakika, 720C'de bir dakika olmak üzere toplam 36 döngü üzerinden PZR gerçekleştirildi. Otuzaltı siklusun sonunda 720C'de 10 dakika bekletmeyle PZR tamamlandı. Amplifikasyon sonrası elde edilen PZR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile görüntüledi. Ultraviyole ışık (UV) altında, oluşan bantlar DNA ağırlık markeri ve pozitif kontrol ile kıyaslanarak 259 bp uzunluğunda bant tespit edilen örnekler HBV-DNA yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 12.00 paket programı kullanıldı. Hastalar arasındaki kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi, kategorik olmayan verilerin karşılaştırılmasında ise, Mann-Whitney U ve One-Way ANOVA testleri uygulandı. $P < 0,05$ olan değerler, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 81'i hemodiyaliz, 59'u periton diyalizi, 46'sı prediyaliz olmak üzere toplam 186 hasta alındı. Hemodiyaliz hastalarının 4'ünde, periton diyalizi hastalarının 5'inde ve prediyaliz hastalarının 3'ünde HBsAg pozitif olarak saptandı. HBsAg-pozitif hastalar çalışma dışında bırakıldı. Geriye kalan 174 hastanın genel özellikleri Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. Hastaların genel özellikleri

(n=174)	Hasta değerleri	Normal değerler
Yaş (yıl)	49.9 \pm 17.3	---
Cinsiyet (K/E)	84/90	---
Hemoglobin (gr/dl)	11.3 \pm 3.2	12-16
Üre (mg/dl)	144.3 \pm 48.7	10-50
Kreatinin (mg/dl)	7.5 \pm 2.8	0,6-1,2
AST (U/L)	14.9 \pm 7.5	8-33
ALT (U/L)	14,3 \pm 9.8	5-40
Serum albumini (gr/dl)	3.9 \pm 0.44	3.5-5.3
Parathormon (pg/ml)	400.8 \pm 328.9	12-65
CRP (mg/l)	5.5 \pm 4.1	0-5

AST: Aspartat aminotransferaz, **ALT:** Alanin aminotransferaz, **CRP:** C-reaktif protein

Hasta grupları ayrı ayrı olarak incelendiğinde; hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları arasında yaş, cinsiyet, primer böbrek hastalığı, diyaliz süresi, üre, kreatinin, AST, ALT ve C-reaktif protein (CRP) değerleri açısından anlamlı fark yoktu (Tablo II). Tüm hastalar dikkate alındığında HBsAg pozitiflik oranı %6,3 (12/189) olarak saptandı. HBsAg-negatif hastalar arasında, PZR yöntemi ile HBV-DNA pozitiflik oranı %1,7 (3/174) olarak bulundu. Gizli hepatit B pozitifliği, hemodiyaliz hastalarında %2,6 (2/77), periton diyalizi hastalarında %1,8 (1/54) olarak saptandı. Prediyaliz hastalarının hiçbirinde gizli hepatit B saptanmadı. HBV-DNA'nın pozitif bulunduğu her iki diyaliz grubunda da hastaların aynı zamanda izole anti-HBc pozitifliği (HBsAg negatif hastada anti-HBc pozitifliği) gösterdiği belirlendi (Tablo III).

Hemodiyaliz hastalarının 35'inde, periton diyalizi hastalarının 12'sinde ve prediyaliz hastalarının 10'unda anti-HBs pozitif olarak saptandı. Bu oran tüm hastalar için 57/174 (%32) idi.

Hepatit B virüsü yüzey antijeni negatif olan 174 hastanın serum örneklerinden yapılan PZR sonucunda elde

Tablo II. Grupların genel özelliklerinin karşılaştırılması

	Hemodiyaliz (n=77)	Periton diyalizi (n=54)	Prediyaliz (n=43)
Yaş (yıl)	51.9 \pm 18.1	46.8 \pm 14.9	50.5 \pm 18.1
Cinsiyet (K/E)	40/37	19/35	25/18
Primer böbrek hastalığı			
Glomerüler hastalık	21	13	11
Diabetes mellitus	14	10	9
Hipertansiyon	12	8	6
Amiloidoz	3	1	--
Diğer/Bilinmeyen	27	22	17
Diyaliz süresi (ay)	48.5 \pm 41.5	42.9 \pm 44	--
Üre (mg/dl)	144.2 \pm 38.9	137.6 \pm 47.6	152.5 \pm 63.5
Kreatinin (mg/dl)	7.7 \pm 2.1	9.1 \pm 3.4	5.1 \pm 1.3*
AST (U/L)	16.0 \pm 6.7	13.7 \pm 5.3	15.1 \pm 9.8
ALT (U/L)	12.8 \pm 10.8	15,1 \pm 8,4	15.9 \pm 9.6
CRP (mg/l)	4.9 \pm 3.3	6.7 \pm 4.5	5.1 \pm 4.8

AST: Aspartat aminotransferaz, **ALT:** Alanin aminotransferaz, **CRP:** C-reaktif protein

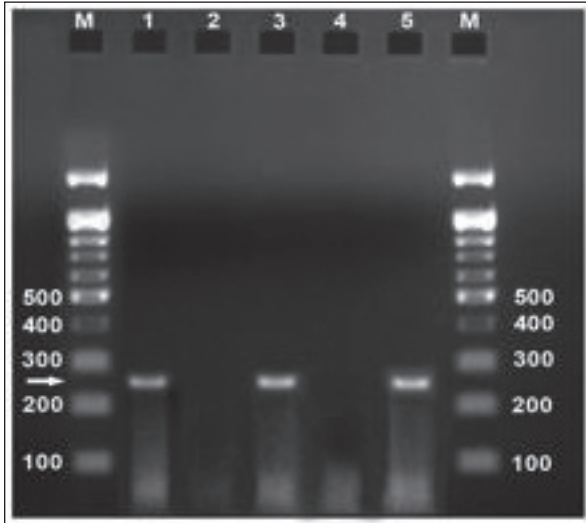
* $p < 0,05$, hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarına göre

Tablo III. Hasta grupları arasında hepatit belirleyicilerinin karşılaştırılması

	Hemodiyaliz n=81	Periton diyalizi n=59	Prediyaliz n=46
HBsAg pozitifliği	4	5	3
HBV DNA	2	1	-
Anti-HBc pozitifliği	21	26	2
İzole anti-HBc pozitifliği	5	3	1
HBV-DNA	2	1	--
Gizli hepatit B	2/77	1/54	0/43
İzole anti-HBc pozitifliği	2	1	-
Anti-HCV pozitifliği	4	2	1

edilen ürünler, 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak, içine 10 µl etidyum bromür eklenmiş %2'lik agaroz jeldeki kuyucuklara yüklendi. 259 baz çifti ağırlığındaki HBV-DNA pozitif polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

Gizli HBV enfeksiyonu yönünden pozitif olan hastalarla negatif hastalar karaciğer enzimleri ve CRP düzeyleri yönünden karşılaştırıldı. Her iki grupta da ortalama AST ve ALT değerleri normal sınırlar içinde



Şekil 1. HBV-DNA pozitif örnekler için PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jel görüntüsü. M hatları: 100 bp'lik DNA moleküler ağırlık markeri; 1, 3, ve 5. hatlar pozitif olarak saptanan serum örnekleri (259 bp'lik bantlar); 2. hat: DNA ekstraksiyon negatif kontrolü; 4. hat: PZR negatif kontrolü.

olmakla birlikte, gizli hepatit B pozitif hastalarda AST ve ALT düzeyleri daha yüksekti, ancak hasta sayısının az olmasının da etkisiyle anlamlı fark gözlenmedi. Kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda çeşitli sebeplere bağlı olarak gelişen mikroi inflamasyonun bir belirteci olan CRP değerleri ise gizli hepatit B pozitif hastalarda daha yüksek görünürken, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo IV).

Tablo IV. Gizli hepatit B pozitif ve negatif hastaların genel özellikleri

	Gizli hepatit B pozitif (n=3)	Gizli hepatit B negatif (n=171)	p
Yaş (yıl)	43,6±8,3	50,1±17,3	>0,05
AST (U/L)	15±7,5	9,3±6,5	>0,05
ALT (U/L)	14,4±9,9	7,0±2,0	>0,05
CRP (mg/l)	8,5±6,2	5,5±4,2	>0,05

AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz,
CRP: C-reaktif protein

TARTIŞMA

Hemodiyaliz hastalarının, akut hepatit B enfeksiyonundan sonra kronik taşıyıcı olma ihtimali oldukça yüksektir. Bunun yanında, HBV taşıyıcısı olan diyaliz hastalarında kronik karaciğer hastalığı gelişme riski de fazla olup birçok hasta böbrek nakli şansını kaybetmektedir. Sonuç olarak; diyaliz hastalarında HBV enfeksiyonlarının tespiti, önlenmesi ve tedavisi oldukça önem taşımaktadır (11).

Hemodiyaliz hastalarında HBsAg pozitifliği giderek azalmasına rağmen, spesifik ve sensitif PZR temelli HBV-DNA testleri ile HBsAg'nin negatif olduğu hastalarda HBV viremisi (gizli hepatit B) olduğu gösterilmiştir (12). Gizli hepatit B varlığının çeşitli hasta gruplarında prevalansı ve klinik önemi hakkında çalışmalar giderek artmaktadır. Biz de bu çalışmada hemodiyaliz hastalarında, gizli hepatit varlığını ve hepatit belirteçleri ile ilişkisini araştırdık. Buna ek olarak daha önce gizli hepatit prevalansı ile ilgili bir çalışmaya rastlamadığımız periton diyalizi hastalarını ve prediyalitik hastaları da çalışma kapsamına aldık.

Gizli HBV enfeksiyonu ile ilgili bazı çalışmalara rağmen, gerçek prevalansı tam olarak saptanamamıştır. Bunun nedenleri, gizli HBV enfeksiyonu kliniğinin oldukça geniş kullanılan yöntemlerin duyarlılığının değişkenlik göstermesidir. Bu nedenle yüksek duyarlı ve özgün PZR çalışmaları, gerçek prevalansın saptanması için önemlidir. Çalışmamızda, hedef nükleik asitlerin

çoğaltılması esasına dayalı PZR yöntemi kullanılarak HBV-DNA amplifikasyonu yapılmış, amplifikasyon sonrası elde edilen ürünler elektroforez cihazında %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında elde edilen bant profilleri değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucu beklenildiği gibi 259 bç uzunluğundaki bantlar HBV-DNA yönünden pozitif olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda, PZR yöntemi ile gizli hepatit B oranı hemodiyaliz hastalarında %2.6, periton diyalizi hastalarında %1.8, prediyaliz hastalarda %0 olarak bulunmuştur. Çeşitli çalışmalarda hemodiyaliz hastalarında gizli HBV enfeksiyonunun oranı, ortalama olarak %14-36 aralığında bildirilmiştir (12-14). Altındış ve ark. hemodiyalize giren 153 hasta ile hiçbir zaman diyaliz tedavisi almamış 73 kişiden oluşan, hepsi HBsAg negatif olan toplam 226 bireyde gizli hepatit B varlığını gerçek zamanlı PZR yöntemi ile araştırmışlardır. Hemodiyaliz hastalarının %12,4'ünde, hemodiyaliz hastası olmayan ancak farklı serolojik profillere sahip bireylerin ise %6,8'inde HBV-DNA pozitifliği saptamışlardır (15). Bizim hemodiyaliz hastalarımızda saptadığımız gizli hepatit oranı literatürdeki sonuçlara göre daha düşük seviyelerdedir. Bununla birlikte HBsAg negatif hemodiyaliz hastalarında HBV-DNA pozitifliğinin çok düşük oranlarda bildirildiği çalışmalar da rapor edilmiştir. Fabrizi ve ark. 213 hemodiyaliz hastasını inceledikleri çok merkezli bir çalışmada hastaların hiçbirinde (%0) gizli hepatit B enfeksiyonu bulamamışlardır (16). Yakaryılmaz ve ark. bu oranı 188 hemodiyaliz hastasında 5 (%2,7); Minuk ve ark. ise 239 erişkin hemodiyaliz hastasında %3,8 olarak bildirmişlerdir (17,18). Kullanılan tekniğin duyarlılığı, hasta gruplarının büyüklüğü ve virolojik özelliklerin, oranlardaki bu farklılıklara neden olabileceği bildirilmiştir (12,19). Bunun dışında, çalışılan bölgedeki insan populasyonunun HBV sıklığı bu farklılıkta rol oynayabilir. Çünkü, gizli hepatit B prevalansında coğrafik değişikliklerin de etkili olduğu, dolayısı ile HBV enfeksiyonu endemisi ile de çok yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (20).

Hepatit B ve C virüsü ko-enfeksiyonu sık görülen klinik bir durumdur (21). Hepatit C virüsüne HCV bağlı kronik karaciğer hastalığı olanlarda HBV-DNA pozitifliği HCV dışı sebeplere bağlı olanlara göre daha fazladır (22). Klinik önemi iyi anlaşılacakla birlikte, gizli HBV enfeksiyonlarının kronik hepatit C'li hastalarda daha sık olduğu bildirilmiştir (23). Diğer taraftan, HCV varlığının HBV replikasyonunu baskıladığını ileri süren çalışmalar da vardır (23,24). Altındış ve ark. hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B oranını %12,4, anti-HCV pozitif olan hemodiyaliz hastalarında ise %27,5 olarak belirlemişlerdir (93). Bu oranı Kao ve ark. %15, Silva ve ark. %14, Khatlab ve ark. ise %7,5

olarak bildirmişlerdir (23,25,26). Beşışık ve ark. kronik hepatit C'li hastalarda artmış gizli HBV enfeksiyonu insidansının önemli bir kısmından YMDD mutasyonunun sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir (13). Bunun aksine, Göral ve ark. HBsAg negatif, anti-HCV pozitif 50 kronik hemodiyaliz hastasında gizli hepatit B oranını %0 olarak bildirmiştir (27). Bizim ünitemizde anti-HCV pozitif hasta sayımız azdır, dolayısıyla bu verilerle HCV ve gizli HBV etkileşimi konusunda bir sonuç çıkarmak mümkün olmamıştır.

Gizli hepatit B ile ilişkisi araştırılan bir başka durum da anti-HBc pozitifliğidir. İzole anti-HBc (HBsAg-negatif hastada anti-HBc pozitifliği) varlığının klinik önemi non-üremik hastalarda olduğu gibi diyaliz hastalarında da tam olarak bilinmemektedir. Bazı raporlarda anti-HBc pozitifliğinin enfeksiyöz bir potansiyele sahip olduğu ileri sürülmüştür. Carpenter ve ark., anti-HBc prevalansının anti-HCV pozitif hastalarda daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (28). Yakaryılmaz ve ark., bu oranı %7,9 olarak bildirmişlerdir (17). Buna karşılık, Beşışık ve ark. anti-HCV pozitif hastaların hiçbirinde anti-HBc pozitifliği bulamamışlardır (13). Yine aynı yazarlar ve ayrıca Haushofer ve ark. tarafından anti-HBc seropozitifliği açısından gizli hepatit B enfeksiyonu olan ve olmayan hastalar arasında herhangi bir farklılık bulamamışlardır (13,17,29). Yakaryılmaz ve ark., tüm hastalarda anti-HBc pozitifliğini %44,7, izole HBc pozitifliğini %6,4 olarak bulmuşlar ve izole anti-HBc pozitifliğinin gizli hepatit B olanlarda daha yüksek olduğunu bildirmiştir (17). Bizim sonuçlarımıza göre hemodiyaliz hastalarının 21'inde (%27,2) periton diyaliz hastalarının 26 (%48,1)'sında ve prediyaliz hastaların 2 (%4,6)'sında anti-HBc pozitifliği saptanmıştır. İzole anti-HBc pozitifliği oranı ise sırasıyla %6,5 (5/77), %5,5 (3/54) ve %2,3 (1/43)'dür ve gizli HBV enfeksiyonu olarak tanımladığımız hastaların hepsinde izole anti-HBc pozitifliği gözlenmiştir. Ancak, anti-HBc pozitifliği olan hastalarımızın hiçbirinde klinik olarak akut ikterik hepatit öyküsü alınmamıştır. Uzun süreler önce veya erken çocukluk döneminde enfeksiyonun alınması bu durumun olası nedenleri olarak düşünülebilir. Diğer taraftan akut hepatitin subklinik seyredebileceği de unutulmamalıdır (30).

Hastalarımızın %32'sinde anti-HBs pozitif olup bunların hiçbirinde HBV-DNA pozitifliği gözlenmemiştir. Genel bilgi olarak antijenleri negatifleşmiş, anti-HBs ve anti-HBc antikoru oluşmuş kişilerde enfeksiyonun sona erdiği düşünülmektedir. Bu çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular da bu görüşü desteklemiştir. Ancak, anti-HBs'nin pozitif olması her zaman iyileşme anlamına gelmemektedir. Nadiren HBsAg-negatif ve anti-HBs-pozitif olan hastalarda da HBV-DNA varlığı gösterilmiştir

(31,32). Nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, gizli HBV'li hemodiyaliz hastalarında, anti-HBs'nin varlığı, HBV'nin yetersiz nötralizasyonunu ve rutin serolojik profilin HBV enfeksiyonunun durumunu tanımlamada her zaman için tek başına yeterli olmayabileceğini düşündürmektedir.

Aktif viral replikasyonun olduğu HBsAg-pozitif diyaliz hastalarında karaciğer hasarının daha fazla olduğu ve serumda HBV-DNA varlığının aminotransferaz aktivitesinin güçlü ve bağımsız bir belirleyicisi olduğu daha önce gösterilmiştir (33). Yakarıılmaz ve ark. yaptıkları çalışmada HBV viremisi olan ve olmayan hastaları karşılaştırdıklarında AST ve ALT düzeylerinin benzer olduğunu görmüştür (17). Bizim çalışmamızda ise; HBV viremisi olan hastaların ALT düzeyleri HBV-DNA-negatiflere göre daha yüksek (14,4±9,9 U/L vs 7,0±2,0 U/L) saptanmış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik olarak bulunmamıştır. Çalışmamızda, saptanan gizli HBV enfeksiyonu sayısının azlığı bu bilginin değerlendirilmesinde yeterli olmamakla birlikte, serum aminotransferaz düzeyleri hemodiyaliz hastalarında gizli hepatit B enfeksiyonu için uygun bir tarama metodu olamayacağı düşünülmüştür.

Gizli hepatit B enfeksiyonunun çeşitli klinik durumlardaki önemi, özellikle diyaliz hastalarındaki sonuçları hakkındaki çalışmalar hala güncelliğini korumaktadır. Gizli HBV enfeksiyonunun klinik sonuçları ile ilgili olarak organ nakli yapılan hastalarda da önemli çalışmalar yapılmaktadır. Gizli HBV enfeksiyonlu vericilerden nakil sonrası HBV geçiş riski %25–94 arasındadır (34,35). Bunun dışında, gizli HBV enfeksiyonunun bazı hastalarda karaciğerde hafif düzeyde kronik hasara neden olduğu ileri sürülmüştür (36).

Çalışmamızdaki 59 Periton diyalizi hastasının 5 (%8,4)'inde HBsAg pozitifliği bulunurken, bu hastaların sadece birisinde HBV-DNA pozitif bulunmuştur. HBsAg negatif olan 54 hastadan 1 (%1,8)'inde HBV-DNA pozitif olarak saptanmıştır. Prediyaliz dönemdeki hastalarımızda ise bu oran %0'dır.

Sonuç olarak çalışmamızda, HBsAg negatif hemodiyaliz hastalarında %2,6, periton diyalizi hastalarında %1,8 oranında gizli HBV enfeksiyonu saptanmıştır. Bu hastaların bulaştırıcılık özellikleri de göz önüne alındığında, HBV negatif hastalara diyaliz yoluyla virüsün bulaştırılması kaçınılmaz görülmektedir. Bu ise kronik böbrek yetmezliği nedeniyle hayat kalitesi belirgin düzeyde düşmüş olan diyaliz hastalarında morbidite ve mortaliteyi yükseltebilecek önemli bir risk oluşturacaktır. Gizli hepatit B enfeksiyonunun tanısında anahtar test HBV-DNA'nın saptanması olduğu için

kullanılan teknik ve yöntemin standardizasyonu çok önemlidir. Diyaliz ünitelerine başvuran hastalarda en azından ilk başvuru sırasında PZR tabanlı bir yöntemle viral DNA araştırması yapılması ileride gelişebilecek sağlık sorunlarının engellenmesi açısından faydalı olabilir. Bu konuda daha kapsamlı çalışmalara duyulan gereksinim devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Zhang YY, Guo LS, Li L, Zhang YD, Hao LJ, Hansson BG, Nordenfelt E: Hepatitis B virus DNA detected by PCR in sera and liver tissues of Chinese patients with chronic liver diseases *Chin Med J* 1993;106:7-12
2. Boyacıoğlu S: Hemodiyaliz ve böbrek naklinde hepatitis B virus enfeksiyonu. Kronik B ve delta hepatiti tanı ve tedavisi 'ulusal uzlaşma toplantısı' III. Ulusal Hepatoloji Kongresi Kitabı 1999:50-58
3. Ereğ E, Serdengeçti K, Süleymanlar G: Registry of the Nephrology, Dialysis and Transplantation in Turkey: Registry 2004. İstanbul, Art Ofset, 2005:19
4. Doğukan A, Taşkapan H, Güven M, Tokgöz B, Oymak O, Utaş C: Prediyaliz, hemodiyaliz ve sürekli ayaktan periton diyalizi hastalarında çift doz hepatit B aşısına yanıt. *Türk Nefroloji Diyaliz Hipertansiyon ve Transplantasyon Dergisi* 1999;4:192-194
5. Hu KQ: Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepatol* 2002 ;9:243–257
6. Ergünay K: Gizli (Ökült) Hepatit B enfeksiyonu. *Mikrobiyol Bül* 2005; 39: 241-249
7. Weinberger KM, Bauer T, Böhm S, Jilg W: High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J Gen Virol* 2000; 81: 1165-1174
8. Torbenson M, Thomas DL: Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002;2:479-486
9. Tassopoulos NC, Kuhns MC, Koutelov MG, McNamara AI, Todoulos A: Quantitative detection of hepatitis B virus DNA in sera from patients with acute hepatitis B. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 2156-2162
10. Ağaçayak A, Yılmaz S, Bulut Y, Özdarendeli A, Seyrek A: Investigation of HBV DNA obtained from sera and semen in hepatitis B carriers. *Viral Hepatit Dergisi* 2004; 9: 130-134
11. Mathurin P, Mouquet C, Poynard T, Sylla C, Benalia H, Fretz C, et al: Impact of B and C virus on kidney transplantation outcome. *Hepatology* 1999;29:257-263
12. Cabrerizo M, Bartolome J, De Sequera P, Caramelo C, Carreno V: Hepatitis B virus DNA in serum and blood cells of hepatitis B: surface antigen-negative hemodialysis and staff. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1443-1447
13. Beşışık F, Karaca C, Akyüz F, Horosanlı S, Onel D, Badur S, et al: Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol* 2003;38:506-510
14. Dueymes JM, Bodenes-Dueymes M, Mahe JL, Herman B: Detection of hepatitis B viral DNA by polymerase chain reaction in dialysis patients. *Kidney Int* 1993;41:161-166
15. Altındış M, Usulan İ, Çetinkaya Z, Yüksel S, Çiftçi İH, Demirtürk N, et al: Hemodiyaliz hastalarının gizli hepatit B varlığı yönünden araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 2007;41:227-233

16. Fabrizi F, Messa PG, Lunghi G, Aucella F, Bisegna S, Mangano S, et al: Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients: A multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1341-1347
17. Yakaryılmaz F, Gurbuz OA, Guliter S, Mert A, Songur Y, Karakan T, Keles H: Prevalence of occult hepatitis B and hepatitis C virus infections in Turkish hemodialysis patients. *Ren Fail* 2006;28:729-735
18. Minuk GY, Sun DF, Greenberg R, Zhang M, Hawkins K, Uhanova J, et al: Occult hepatitis B virus infection in a North American adult hemodialysis patient population. *Hepatology* 2004;40:1072-1077
19. Cabrerrizo M, Bartolome J, Caramelo C, Barril G, Carreno V: Molecular analysis of hepatitis B virus DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells from hepatitis B surface antigen-negative cases. *Hepatology* 2000;32:116-123
20. Grob P, Jilg W, Bornhak H, Gerken G, Gerlich W, Günther S, et al: Serological pattern "anti- HBc alone": report on a workshop. *J Med Virol* 2000; 62: 450-455
21. Sheen IS, Liaw YF, Chu CM, Pao CC: Role of hepatitis C virus infection in spontaneous hepatitis B surface clearance during chronic hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1992;165:831-834
22. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G: Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341:22-26
23. Khattab E, Chemin I, Vuillermoz I, Vieux C, Mrani C, Guillaud O, et al: Analysis of HCV co-infection with occult hepatitis B virus in patients undergoing IFN therapy. *J Clin Virol* 2005;33:150-157
24. Shih CM, Lo SJ, Miyamura T, Chen SY, Lee YH: Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HuH-7 cells. *J Virol* 1993;67:5823-5832
25. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS: Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002;1:4068-4071
26. Silva C, Goncales NS, Pereira JS, Escanhoela CA, Pavan MH, Goncales FL: The influence of occult infection with hepatitis B virus on liver histology and response to interferon treatment in chronic hepatitis C patients. *Braz J Infect Dis* 2004; 8: 431-439
27. Goral V, Ozkul H, Tekes S, Sit D, Kadiroglu AK: Prevalence of occult HBV infection in haemodialysis patients with chronic HCV. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3420-3424
28. Carpenter PA, Huang ML, McDonald GB: Activation of occult hepatitis B from seronegative patient after hematopoietic cell transplant: a cautionary tale. *Blood* 2002;99:4245-4246
29. Haushofer AC, Hauer R, Brunner H, Köller U, Trubert-Exinger D, Halbmayr WM, et al: No evidence of hepatitis B virus activity in patients with anti-HBc antibody positivity with or without anti-hepatitis C virus antibody positivity. *J Clin Virol* 2004;29:221-223
30. Abdelmalek MF, Pahsa TM, Zein NN, Persing DH, Wiesner RH, Douglas DD: Subclinical reactivation of hepatitis B virus in liver transplant recipients with past exposure. *Liver Transpl* 2003;9:1253-1257
31. Tanaka Y, Esumi M, Shikata T: Persistence of hepatitis B virus DNA after serological clearance of hepatitis B virus. *Liver* 1990;10:6-10
32. Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M, Hamamoto S, Satoh S, Tanaka S, et al: Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver diseases: clinical and virological significance. *J Med Virol* 1999;58:201-207
33. Fabrizi F, Mangano S, Alongi G, Bisegna S, Finazzi S, Lunghi G, Ponticelli C: Influence of hepatitis B virus viremia upon serum aminotransferase activity in dialysis population. *Int J Artif Organs* 2003;26:1048-1055
34. Chazouilleres O, Mamish D, Kim M, Carey K, Ferrell L, Roberts JP, et al: "Occult" hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994;343:142-146.
35. Marcellin P, Giostra E, Martinot-Peignoux M, Lorient MA, Jaegle ML, Wolf P, et al: Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology* 1991;100:1432-1434
36. Blackberg J, Kidd-Ljunggren K: Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol* 2000;33:992-997