

# HCV İnfeksiyonu Tanısında EIA ve PCR Sonuçlarının Karşılaştırılması(\*)

Tuncer ÖZEKİNCİ (\*\*), Selahattin ATMACA(\*\*), Nezahat AKPOLAT(\*\*),  
Hakan TEMİZ(\*\*), Eralp ARIKAN (\*\*)

(\*) 3.Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi (28 Haziran-1 Temmuz, Ankara) 'sinde sunulmuştur.  
(\*\*) Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Dicle Üniversitesi Hastanesi Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden gelen anti-HCV'si pozitif ve anti-HCV'si negatif olan hastalarda, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile Hepatit C virus (HCV) RNA pozitifliğinin araştırılmasıdır. HCV enfeksiyonu geçirdiğinden şüphelenen 255 hastadan alınan serum örnekleri çalışmaya alınmıştır. Hastaların 178 (%69.8)'inde anti-HCV pozitif, 77 (%30.2)'sinde anti-HCV negatif, 123 (%48.3)'ünde HCV RNA pozitif bulunmuştur. HCV RNA pozitif hastaların 108'de anti-HCV pozitif, 15'inde anti-HCV negatiftir. HCV RNA araştırılmasının, anti-HCV pozitif hastalarda olduğu kadar, anti-HCV negatif hastalarda da önemli olduğu görülmüştür. Bu nedenle PCR ile HCV-RNA'sının gösterilmesi hem tanı için hem de tedavinin izlenmesi açısından değerli bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: HCV RNA, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), EIA.

## SUMMARY

### Comparison of PCR and EIA Results in Diagnosis of HCV Infection

The aim of the present study was to investigate the positivity of HCV RNA by polimerase chain reaction (PCR) in patients with positive and negative anti-HCV. The sera of patients sent to the Routine Laboratory, Dicle University Hospital were studied. Serum samples obtained from 95 patients with suspected HCV infection were analyzed. Anti-HCV was found to be positive in 178 (69.8%) and negative in 77 (30.2%) of the patients. HCV RNA was found to be positive 123 (48.3%) of the patients. Anti-HCV was found to be positive 108 (87.8%) and negative in 15 (12.2%) of patients with positive HCV RNA. It was found that detection of HCV RNA in anti-HCV negative patients were important as in positive patients. Because of that in routine laboratories PCR seemed to be a valuable assay for HCV RNA determination for diagnosis and also following up therapies.

Key words: HVC RNA, Polymerase Chain Reaction (PCR), EIA.

## GİRİŞ

HCV tüm dünyada yaygın olarak görülen, insidansı giderek artan bir virüstür. Akut hepatitlilerin %20'sinden kronik hepatitlilerin ise %70'inden HCV sorumlu tutulmaktadır (1). HCV enfeksiyonlarının özgül tanısı; virüse karşı gelişmiş antikorların ya da doğrudan vireminin gösterilmesiyle olanaklıdır. Her ne kadar anti-HCV antikorların varlığı bireyin HCV ile karşılaşmış olduğunu göstermekteyse de tek başına akut enfeksiyon varlığını göstermede yetersiz kalmaktadır. Ayrıca hepatit C virusu enfeksiyonun seyri sırasında, serumda HCV antikorunun saptanına kadar uzun bir seronegatif dönem bulunmaktadır. HCV enfeksiyonlarının kesin tanısı için

HCV RNA'nın varlığının gösterilmesi "altın standart"tır (2,3).

Bu çalışmada, HCV enfeksiyonu geçirdiğinden şüphelenen HBV dahil diğer viral, toksik, metabolik ve otoimmün nedenlerin ekarte edildiği anti-HCV pozitif ve anti-HCV'si negatif olan hastalarda Real Time PCR ile HCV RNA pozitifliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Serum örnekleri. HCV enfeksiyonu geçirdiğinden şüphelenen 255 hastanın kan örnekleri incelemeye alınmıştır. Serum örnekleri uygun koşullarda ayrıldıktan sonra test edildikleri güne kadar -70 °C' de saklanmıştır.

Serolojik test. Anti HCV EIA, Cobas Core 2 İmmunochemistry System(Roche) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulayarak anti-HCV varlığı araştırılmıştır.

HCV RNA'nın saptanması. Robo Gene (Roboscreen, Leipzig, Germany) kitleriyle ABI PRISM 5700 (Applied Biosystems) cihazında Real Time PCR yöntemiyle çalışılmıştır.

#### BULGULAR

Bu çalışmada 255 hastanın 108'inde (%42.4) anti-HCV ve HCV RNA pozitif ; 62'sinde(%24.3) anti-HCV ve HCV RNA negatif ; 70'inde (%27.4) anti-HCV pozitif HCV RNA negatif ;15'inde (%5.9) anti-HCV negatif HCV RNA pozitif tespit edilmiştir. Sonuçları farklı bir şekilde yorumlarsak; 255 hastanın 178'inde (%69.8) anti-HCV pozitif bulunmuş; bu 178 hastanın 108'inde (%60.7) HCV RNA tespit edilebilmiştir. 77 anti-HCV negatif hastadan 15'inde (%19.5) HCV RNA tespit edilmiştir (Tablo 1).

#### TARTIŞMA

HCV infeksiyonu tüm dünyada yaygın bir sağlık sorunudur. İnfeksiyon prevalansı genel olarak %3 dolayındadır. Bu oran Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da oldukça düşükken; Doğu Avrupa, Ortadoğu, Hindistan ve Afrika'nın bazı bölgeleriyle Asya'da %5 düzeyindedir(4). Ülkemizde sağlıklı kişiler yada kan donörlerinde yapılan seroprevalans çalışmaları anti-HCV pozitifliğinin %0.3-1.7 arasında değiştiğini göstermektedir(5).

EIA testleri, kullanımlarının kolay ve ucuz olmaları nedeniyle tanıda ilk tercih edilecek testlerdir. HCV tanısı için üçüncü kuşak EIA testi geliştirilmiştir. Anti-HCV antikorlarının varlığı, bireyin HCV ile karşılaştığını göstermektesede, tek başına akut bir infeksiyon varlığını göstermede yetersiz kalmakta-

dır. Üçüncü kuşak testlerde bile serokonversiyon saptanması 5-6. haftayı bulmaktadır. Erken dönemde vireminin saptanmasında PCR ile HCV RNA'nın araştırılması çok önemli parametre olarak kabul edilmektedir(6,7).

Çalışmamızda 108 (%42.4) örnekte EIA ve PCR yöntemlerinin her ikisiyle de pozitif, 62 (%24.3) örnekte her ikisiyle de negatif sonuç elde edilmiştir. 70(%27.4) örnekte anti-HCV pozitif olduğu halde HCV RNA saptanmamıştır. Bu durum latent veya inaktif infeksiyonda seropozitifliğin devam etmesi HCV viremi düzeyinin kullanılan yöntemin saptayabildiği düzeyden düşük olması, HCV RNA'nın yalancı negatifliği veya HCV'nin aralıklı sirkülasyonla salınımlarıyla aynı hasta için değişken PCR sonuçları elde edilmesi ile açıklanabilir(8,9).

Ayrıca çalışmada, anti-HCV negatif 15(%5.9) örnekte HCV RNA saptanmıştır. Bu da örneklerde kontaminasyon veya non spesifik amplifikasyona bağlı yalancı pozitiflik olabileceği düşünülerek; test iki kere ve tüm parametreleri gözden geçirilerek tekrarlanmıştır. Anti-HCV negatif hastalarda ; HCV RNA varlığı bu hastaların önemli bir bölümünde immun supresyon söz konusu olabileceğini, dolayısıyla antikor yanıtta yetersizlik olabileceğini göstermektedir. Ayrıca antikor saptanamayan olgularda HCV RNA'nın gösterilmesi hastaların özelliklerine ve virus ile karşılaşma sürelerinin uzunluğuna göre değişiklik göstermektedir. Hepatit C virus infeksiyonunun seyri sırasında, serumda HCV antikor saptanmaya kadar uzun bir seronegatif dönem bulunmaktadır (2,7,10).

Sonuç olarak, anti-HCV pozitif hastalarda HCV RNA araştırılması takip ve tedavi açısından gereklidir. Anti-HCV negatif viremili hastaların saptanmasında özellikle şüpheli ve serokonversiyon gelişmeyen olguların aydınlatılabilmesinde veya uygulana-

Tablo 1. PCR ile elde edilen sonuçların, anti-HCV sonuçları ile karşılaştırılması

	HCV RNA (+)		HCV RNA (-)		TOPLAM	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Anti HCV(+)	108	42.4	70	27.4	178	69.8
Anti HCV(-)	15	5.9	62	24.3	77	30.2
TOPLAM	123	48.3	132	51.7	255	100.0

cak tedavi etkinliğinin izlenmesinde PCR rutin kullanılması gereken bir yöntemdir.

#### KAYNAKLAR

1. Thomas DL, Leman SM: Hepatitis C. "Mandell, Douglas and Bennet (ed.): Principles and Practice of Infectious Diseases", Fifth ed. Churchill Livingstone (2000).
2. Yenen OS: Hepatit C Virusu. "Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (ed): İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi", p 1377, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul (2002).
3. Garson JA. The polymerase chain reaction and hepatitis C virus diagnosis. FEMS Microbiol Rev 14: 224 (1994).
4. WHO. Global Surveillance and Control of Hepatitis C. J Viral Hepat 6:35 (1999).
5. Mıstık R, Balık İ: Türkiye'de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. "Kılıçturgay K, Badur S (ed): Viral Hepatit 2001" p10, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını ( 2001).
6. Krajden M, Zhao J, Bourke C et al: Detection of Hepatitis C Virüs in second generation Enzyme Immunoassay seropositive blood donors by using matched pairs of fresh frozen plasma and pilot tube sera. J Clin Microbiol 34:2191 (1996).
7. Türkoğlu S: Viroloji ve Seroloji. "Kılıçturgay K, Badur S (ed): Viral Hepatit 2001." p 182, Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını (2001).
8. Albadalejo J,Alonsa R, Antinozzi R, et al: Multicenter evaluation of the COBAS AMPLICOR HCV assay, an integrated PCR System for rapid detection of HCV RNA in the diagnostic Laboratory. J Clin Microbiol 36:862 (1998).
9. Bayraktar B, Şensoy AE, Bulut B, et al: Hepatit C İnfeksiyon şüpheli olgularda Enzim Immunoassay (EIA) ve COBAS AMPLICOR HCV-RNA test sonuçlarının karşılaştırılması. Türk Mikrobiol Cem Derg 33:266 (2003).
10. Us T, Akgün Y, Kural M: RT-PCR ve üçüncü kuşak ELISA yöntemleriyle saptanan HCV-RNA ve Anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması. Viral Hepatit Derg 2:298 (2001).