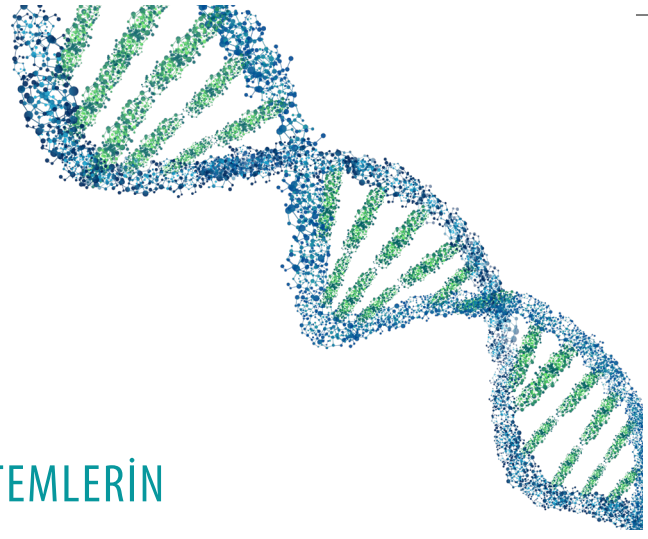


BÖLÜM 31

HEPATİT C VİRÜSÜNÜN TANI, TEDAVİ VE EPİDEMİYOLOJİSİNDE MOLEKÜLER YÖNTEMLERİN KULLANIMI



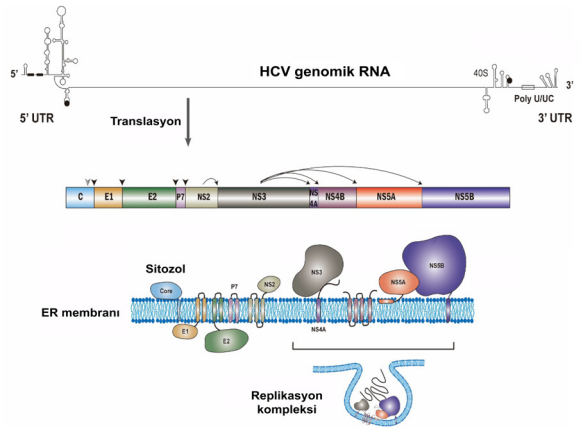
Sibel AYDOĞAN¹

Hepatit C virüsü (HCV) *Flaviviridae* ailesinin *Hepacivirus* cinsi içinde sınıflandırılmış tek iplikli, pozitif polariteli, zarflı bir RNA virüsüdür. Yaklaşık 9600 nükleotit uzunluğunda olan genomik dizilimi, 5' ve 3' uçlarında herhangi bir protein kodlamayan [*Untranslated regions* (UTRs) / *Non-coding regions* (NCR)] bölgeler ile kuşatılmış tek açık okuma bölgesi [*Open Reading Frame*' (ORF)] içerir. HCV ORF 3037-3800 aminoasitten oluşan tek polipeptit kodlar ve posttranslasyonel modifikasyonla üç adet yapısal ve yedi adet yapısal olmayan 10 farklı protein üretir (Şekil 1) ¹.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) küresel olarak tahminen 58 milyon kişinin HCV ile kronik olarak enfekte olduğunu ve her yıl bunlara yaklaşık 1.5 milyon yeni enfekte kişinin eklendiğini bildirmiştir. Ayrıca 2019 yılı için HCV kaynaklı komplikasyonlar nedeni ile yaklaşık 290.000 kişinin öldüğü rapor edilmiştir ².

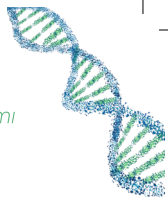
Bugün için HCV'nin doğrulanmış sekiz ana genotipi ve 86 alt tipi tanımlanmıştır. Genotipler coğrafi dağılım ve tedavi yanıtına göre farklılık gösterirler. Ancak hızlı küreselleşme nedeniyle virüsün coğrafi ve genetik çeşitliliği sürekli değişim göstermektedir.

HCV enfeksiyonu çoğunlukla kan veya kan ürünleri aracılığıyla bulaşır. Damar içi ilaç kullanıcıları, pediatrik hematolojik hastalıkları olanlar (kanser, talasemi, hemofili hastaları) gibi kan veya kan ürünlerine maruz kalan hastalarda prevalansı yüksektir. Bunların dışında HIV/AIDS hastaları, HIV enfekte anneden doğanlar, sirozlu hastalar, böbrek hastaları gibi risk teşkil eden gruplarda yüksek riskli gruptadır ve özel tarama programlarına alınmalıdır ³.



Şekil 1. Hepatit C virüsünün genom organizasyonu (1 numaralı kaynaktan uyarlanmıştır)

¹ Doç. Dr., Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, drsaydogan72@gmail.com



çalışmalarında elde edilen filogenetik analizlerdeki dallanma özellikle bulaş ağında olabilecek tüm bireylerden örnekleme yapılmadığında kısıtlı veri sağlayacağından yeterince aydınlatıcı olmayacaktır³⁵⁻³⁷.

İnsan genom projesinin tamamlanmasının ve yeni yöntemlerin geliştirilmesinin bir sonucu olarak konağın genetik arka planını değerlendiren bir dizi HCV ilişkili gen (TNFSF18, TANK, HAVCR1, IL18BP) bildirilmiştir. Özellikle Afrika orijinli enfeksiyonlarda TNFa geninde tek nükleotid polimorfizmleri gösterilmiştir³⁸. Ayrıca IFNλ3 (eski adıyla IL28B) geninin promotör bölgesinde tek nükleotid polimorfizmlerinin varlığı, spontan ve antiviral ilaçlar ile indüklenen HCV iyileşmesinin güçlü bir belirleyicisi olarak ispatlanmıştır. Sonuç olarak bu genlerdeki mutasyonlar taranabilir ve klinik karar verme sürecinde faydalanılabilir^{32,39}.

Genomik dizileme bulaş, filogenetik analiz ve salgın araştırmalarında esas rol almaktadır. Ayrıca yeni nesil dizileme platformuna dayalı teknolojiler ile viral varyantların analizi yapılarak virüs tropizmi de aydınlatılabilir. HCV enfeksiyonunun izlenmesi farklı alt genomik bölgelerden elde edilecek dizi bilgilerine dayanmaktadır. Bu amaçla yaygın olarak 5'UTR ve NS5B kullanılmakla birlikte, bu iki bölge de yüksek derecede korunmuştur ve bu nedenle klinik izolatlar arasında genetik ilişkinin kurulmasında yeterli bilgi sağlayamazlar. Bunların yerine HVR1 (Hypervariable Region 1) bölgesinden elde edilen bilgilerin daha faydalı olabileceği belirtilmiştir⁴⁰.

Son zamanlarda geliştirilen üçüncü nesil dizileme [Single Molecular Real-time Sequencing (SMRT) / Third-Generation Sequencing (TGS)] yöntemleri de çoklu ilaç direnci olan HCV tespiti için kullanılmıştır. Bu yöntemler, çok uzun bitişik sekans okuma özelliklerinden dolayı viral genomun değerlendirilmesinde YND teknolojilerine göre yüksek avantajlı olarak değerlendirilmektedir⁴¹.

HCV RNA düzeyi, viral genotip ve alt tipleri saptayan testler, vireminin doğrulanmasında kullanılarak hekime tedavi kararında yardımcı olmaktadır.

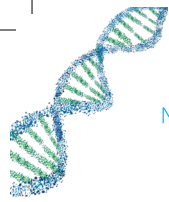
Önceden alınmış tedavi hikayesinin varlığında direnç testleri ve IFNλ3 gen (en azından IFN içeren rejimlerde) saptama ise tedavinin seyri hakkında bilgi verebilmektedir.

Hepatit C virüsü enfeksiyonu bulaşında büyük ölçekli aşı programları, kan transfüzyonu, damar içi ilaç kullanımı ön plandayken, vertikal ve cinsel bulaş daha az sıklıkla sorumlu olmaktadır⁴². HCV epidemisi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri etkilemekle beraber tanı ve tedaviye erişim olanakları arasında ve hatta aynı ülkedeki popülasyonlar arasında bile farklılık bulunmaktadır. Tanı ve tedavi sonrası izleme dahil olmak üzere her kademede pozitif sonuçları en üst düzeye çıkarmak için optimizasyon gereklidir.

Gelecek için hedefler arasında, HCV ile enfekte kişilerin tanımlanması ve tedavilerinde DSÖ rehberlerinin esasında ulusal test ve tedavi stratejilerinin uygulanması, özellikle düşük gelirli ülkeler için ihtiyaç duyulan herkesin ulaşabileceği, uygun, kalite güvencesi olan tanı testlerinin hazırlanması öncelik taşımaktadır. Bunların dışında testlerin basitleştirilmesi, hasta başı testlerinin ve çoklu etken saptayabilen platformların kullanımının artırılması, kendi kendine test, kurutulmuş kan örnekleri ve oral örneklerle test gibi test algoritmalarının kolaylaştırılmasına katkıda bulunacak HCV tanı teknolojilerinin geliştirilmesine öncelik verilmesi de hedefler arasında sayılmaktadır.

Kaynaklar

1. Li HC, Yang CH, Lo SY. Hepatit C viral replication complex. *Viruses* 2021;13: 520.
2. World Health Organization Hepatitis C. 27 July 2021.
3. Spearman CW, Dusheiko CW, Hellard M, Sonderup M. Hepatitis C. *Lancet* 2019;394: 1451-66.
4. Bakhai S, Nallapeta N, El-Atoum M, Arya T, Reynolds JL. Improving hepatitis C screening and diagnosis in patients born between 1945-1965 in a safety-net primary care clinic. *BMJ Open Qual* 2019;8: e000577.
5. Schillie S, Wester C, Osborne M, Wesolowski L, Ryerson AB. CDC recommendations for hepatitis C screening among adults-United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports / 2020;69(2):1-17*.
6. Mukherjee R, Burns A, Rodden D, Chang F, Chaum M, Garcia N, et al. Diagnosis and management of hepatitis C virus infection. *J Lab Autom* 2015;20(5): 519-38.
7. World Health Organization. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. Towards ending viral hepatitis. June 2016. <https://apps.who.int/iris/bitstream/hand>



- le/10665/246177/who?sequence=1
8. Firdaus R, Saha K, Biswas A, Sadukhan PC. Current molecular methods for the detection of hepatitis C virus in high risk group population: A systematic review. *World J Virol* 2015;12,4(1): 25-32.
 9. Cloherty G, Talal A, Collier K, Steinhart C, Hackett J, Dawson G. Role of serologic and molecular diagnostics assay in identification and management of hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol* 2016;54: 265-73.
 10. Amjad M, Moudgal V, Faisal M. Laboratory methods for diagnosis and management of hepatitis C virus infection. *Lab Medicine* 2013;4: 292-99.
 11. Monteuffel JJ, Lee MS, Bussa RM, Sabagha NL, Chaudhry K, Ross JE, et al. Hepatitis C virus reflex testing protocol in an emergency department. *West J Emerg Med* 2022;23(2): 108-14.
 12. Innovation in global health (Unitaid). Hepatitis C diagnostics technology landscape. May 2019.
 13. Villar LM, Cruz HM, Barbosa JR, Bezerra CS, Portilho MM, Scalioni LP. Update on hepatitis B and hepatitis C virus diagnosis. *World J Virol* 2015;4(4): 323-42.
 14. Warkad SD, Nimse SB, Song KS, Kim T. HCV detection, discrimination and genotyping technologies. *Sensors* 2018; 18:3423.
 15. Weber J, Sahoo MK, Taylor N, Shi RZ, Pinsky BA. Evaluation of the Aptima HCV Quant Dx Assay using serum and dried blood spots. *J Clin Microbiol* 2019;57: e00030.
 16. Weismann F, Noeth G, Sarrazin C, Berger A, Kaiser R, Ehret R, et al. Variation analysis of six HCV viral load assays using low viremic HCV samples in the range of the clinical decision points for HCV protease inhibitors. *Med Microbiol Immunol* 2015;204: 515-25.
 17. Deeks ED. Cobas® AmpliPrep/Cobas® TaqMan® HCV quantitative test version 2.0: An in vitro test for hepatitis C virus RNA quantification. *Mol Diagn Ther* 2015;19(1): 1-7.
 18. Schalasta G, Speicher A, Börner A, Enders M. Performance of the new Aptima HCV Quant Dx Assay in Comparison to the Cobas TaqMan HCV test for use with the High Pure System in detection and quantification of hepatitis C virus RNA in plasma or serum. *J Clin Microbiol* 2016;54: 1101-7.
 19. Thedja MD, Wibowo DP, El-Khobar KE, Irawati le S, Turyadi, Setiawan L, et al. Improving linkage to care of hepatitis C: Clinical validation of GeneXpert® HCV Viral Load Point-of-Care Assay in Indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 2021;105(1): 117-24.
 20. Bhattacharjee C, Singh M, Das D, Chaudhuri S, Mukhopadhyay A. Current therapeutics against HCV. *VirusDis* 2021;32(2): 228-43.
 21. Maasoumy B, Vermehren J. Diagnostics in hepatitis C: The end of response-guided therapy? *J Hepatol* 2016;65: S67-S81.
 22. Ansaldi F, Orsi A, Sticchi L, Bruzzone B, Icardi G. Hepatitis C virus in the new era: Perspectives in epidemiology, prevention, diagnostics and predictors of response to therapy. *World J Gastroenterol* 2014;20(29): 9633-52.
 23. Guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization, February 2017.
 24. Türkiye viral hepatitler tanı ve tedavi kılavuzu 2017.
 25. Martinez MA, Franco S. Therapy implications of hepatitis C virus genetic diversity. *Viruses* 2021;13:41.
 26. The American Association for the Study of Liver Diseases and the Infectious Diseases Society of America present. HCV guidance for testing, managing, and treating hepatitis C. Last updated: October 5,2021. www.hcvguidelines.org.
 27. Chontiatita W, Song KS, Guntlo C, Pongthanapisith V, Thongbaipheth N, Wongtabtim G, et al. 6 HCV genotyping 9G test and its comparison with VERSANT HCV genotype 2.0 assay (LiPA) for the hepatitis C virus genotyping. *J Virol Methods* 2017;239: 1-8.
 28. Sohn YH, Ko SY, Kim MH, Oh HB. Performance evaluation of the Abbott RealTime HCV genotype II for hepatitis C virus genotyping. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(4): 469-74.
 29. Yang R, Cong X, Du S, Fei R, Rao H, Wei L. Performance comparison of the VERSANT HCV genotype 2.0 assay (LiPA) and the Abbott RealTime HCV genotype II assay for detecting hepatitis C virus genotype 6. *J Clin Microbiol* 2014;52(10): 3685-92.
 30. Fernandez Caballero JA, Alvarez M, Chueca N, Perez AB, Garcia F. The Cobas® HCV GT is a new tool that accurately identifies hepatitis C virus genotypes for clinical practice. *PLoS ONE* 2017;12(4): e0175564.
 31. Yang R, Wei L. Profile of the VERSANT HCV genotype 2.0 assay. *Expert Rev Mol Diagn* 2018;18(12): 995-04.
 32. Rossi LMG, Escobar-Gutierrez A, Rahal P. Advanced molecular surveillance of hepatitis C virus. *Viruses* 2015;7: 1153-88.
 33. Paolucci S, Premoli M, Novati S, Gulminetti R, Maserati R, Barbarini B. Baseline and breakthrough resistance mutations in HCV patients failing DAAs. www.nature.com/scientificreports 2017; 7:16017.
 34. Li HC, Yong CH, Lo SY. Hepatitis C viral replication complex. *Viruses* 2021;13: 520.
 35. Cruz-Rivera M, Carpio-Pedroza JC, Escobar-Gutierrez A, Lozano D, Vergara-Castaneda A, Riviera-Osorio P, et al. Rapid hepatitis C virus divergence among chronically infected individuals. *J Clin Microbiol* 2013;51: 629-32.
 36. Khudyakov Y. Molecular surveillance of hepatitis C. *Antivir Ther* 2012;17: 1465-70.
 37. Escobar Gutierrez A, Vazquez-Pichardo M, Cruz-Rivera M, Rivera-Osorio P, Carpio Pedroza JC, Ruiz-Pacheco JA, et al. Identification of hepatitis C virus transmission using a next-generation sequencing approach. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 1461-63.
 38. Mosbrugger TL, Duggal P, Goedert JJ, Kirk GD, Hoots WK, Tobler LH, et al. Large-scale candidate gene analysis of spontaneous clearance of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 2010; 201: 1371-80.
 39. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461:399-401.
 40. Gismondi MI, Diaz Carrasco JM, Valva P, Becker PD, Guzman CA, Campos RH, et al. Dynamic changes in viral population structure and compartmentalization during chronic hepatitis C virus infection in children. *Virology* 2013;447: 187-96.
 41. Takeda H, Yamashita T, Ueda Y, Sekine A. Exploring the hepatitis C virus genome using single molecule real-time sequencing. *World J Gastroenterol* 2019;25(32): 4661-72.
 42. Guss D, Sherigar J, Rosen P, Mohanty SR. Diagnosis and management of hepatitis C infection in primary care settings. *J Gen Intern Med* 2018;33(4): 551-7.