

Araştırma

Serum ALT Düzeyleri, HCV RNA Ve Anti-HCV Arasındaki İlişki#

Canan KÜLAH, Füsün BEĞENDİK CÖMERT, Elif AKTAŞ, Nagehan ÖZLÜ, Zafer MENGELÖĞLU

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ZONGULDAK

ÖZET

Hepatit C virus (HCV) infeksiyonlarının laboratuvar tanısında en çok kullanılan yöntemler anti-HCV araştırılması, özellikle alanin amino transferaz (ALT) olmak üzere serum transaminazlarının değerlendirilmesi ve HCV RNA'nın araştırılmasıdır. Bu çalışmada anti-HCV pozitifliği, ALT düzeyleri ve HCV RNA pozitifliği arasındaki ilişkinin retrospektif değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

HCV RNA istemi ile laboratuvara gönderilen toplam 528 farklı hastaya ait serum örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Anti-HCV serolojik belirteci kemiluminesan enzim immün assay (EIA) yöntemi ile HCV RNA gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile çalışılmıştır.

Örneklerin 221'inde (%42) HCV RNA pozitif olarak bulunmuştur. HCV RNA pozitif olarak belirlenen bu örneklerin 19'unda (%8.6) anti-HCV negatif olarak saptanmıştır. HCV RNA negatif bulunan 307 serum örneğinin ise 161'inde (%52.4) anti-HCV pozitif olarak tespit edilmiştir. Toplam 355 anti-HCV pozitif örneğin 194'ünde (%54.6) HCV RNA saptanmıştır. HCV RNA pozitif olarak saptanan hastaların %49.3'ünde, anti-HCV pozitif olarak saptanan hastaların ise %62.8'inde ALT değerlerinin normal sınırlarda olduğu gözlenmiştir. HCV RNA ve anti-HCV birlikte pozitif hastaların %42'sinde; HCV RNA negatif, anti-HCV pozitif hastaların ise %10.6'sında ALT değerleri 50 IU/mL üzerinde saptanmıştır.

Sonuç olarak, HCV RNA varlığının gösterilmesi, özellikle HCV ile infekte fakat anti-HCV serolojik belirteci negatif ya da ALT düzeyleri normal olan hastaların saptanmasında çok değerli bir yöntemdir. Anti-HCV ve ALT düzeyleri her zaman yol gösterici olmamaktadır. HCV infeksiyonlarında anti-HCV pozitifliği, ALT düzeyleri ve HCV RNA pozitifliği birlikte araştırılarak değerlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Hepatit C virusu, HCV RNA, ALT, anti-HCV.

SUMMARY

Relationships between Serum ALT Levels, Anti-HCV and HCV RNA

The investigation of anti-HCV, transaminase levels, especially alanine aminotransferase (ALT) and HCV RNA in sera are the most widely used laboratory methods for the diagnosis of Hepatitis C virus (HCV) infections. In this study, it was aimed to evaluate the relationship between anti-HCV positivity, serum ALT levels and HCV RNA, retrospectively.

A total of 528 serum samples, from different patients, submitted to the laboratory for the routine HCV RNA detection test were included in the study. Anti-HCV serological marker was detected by chemiluminescent



immunoassay method and HCV RNA was detected by quantitative real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

HCV RNA was found to be positive in 221 of the samples (42%). In the 19 of the total HCV RNA positive samples (8.6%), anti-HCV tests were identified as negative. Anti-HCV was identified as positive in 161 (52.4%) out of 307 serum samples, which were identified as HCV RNA negative. HCV RNA was determined in 194 of the total 355 anti-HCV positive samples (54.6%). It was observed that the ALT levels were in normal limits in 49.3% of HCV RNA positive patients and 62.8% of the anti-HCV positive patients. The ALT levels were higher than 50 IU/mL in 42% of the patients who were identified as both HCV RNA and anti-HCV positive and, in 10.6% of the patients who were identified as HCV RNA negative and anti-HCV positive.

In conclusion, detection of the presence of HCV RNA is a valuable method for identification of patients, especially for the HCV infected patients with normal ALT levels or anti-HCV negative test result. Anti-HCV and ALT levels are not always an appropriate guide for the presence of the HCV infection. Anti-HCV positivity, ALT levels and HCV RNA testing should be assessed together to investigate HCV infections.

Key Words: Hepatitis C virus, HCV RNA, ALT, anti-HCV.

*Bu çalışma VIII. Ulusal Viral Hepatit Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak görülen ve kronik karaciğer hastalığı, siroz ve hepatoselüler karsinomaya yol açabilen önemli bir sağlık sorunudur (1-4). Enfeksiyonun çoğunlukla sub-klinik seyri nedeniyle, HCV hepatitinin tanısında güçlük yaşanmaktadır (2, 3).

HCV enfeksiyonunun laboratuvar tanısında bugün en çok kullanılan yöntemler anti-HCV tespiti, özellikle alanin aminotransferaz (ALT) olmak üzere serum transaminazlarının değerlendirilmesi ve HCV RNA'nın araştırılmasıdır (4, 5). HCV enfeksiyonunda bazen, serumda anti-HCV saptanmaya kadar uzun bir seronegatif dönem bulunmaktadır (4). Buna ek olarak, kronik HCV enfeksiyonu bulunan kişilerde seyrek olarak serumda anti-HCV negatifliği olabilmektedir (6).

Bu çalışmada anti-HCV pozitifliği, ALT düzeyleri ve HCV RNA pozitifliği arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hastanemizde rutin HCV RNA istemi yapılarak laboratuvarımıza gönderilen toplam 528 serum örneği çalışmaya dahil edildi. Anti-HCV serolojik belirteci kemiluminesan enzim immün assay (EIA) yöntemi ile (HCV Ab Plus, Access, BIO-RAD, Fransa) çalışıldı. Hasta serumlarından HCV RNA ekstraksiyonu, NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel, Almanya) ekstraksiyon kiti ile gerçekleştirildi. Kantitatif HCV RNA tespiti, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi (ABI

Prism 7700, Perkin Elmer) ile RoboGene HCV (Roboscreen, Almanya) kiti kullanılarak üretici talimatlarına uyularak yapıldı. Çalışmamızda kullanılan PZR kitlerinde inhibisyonu saptamaya yarayan *internal* kontrol bulunmaktaydı. Hastaların HCV RNA istemleri ile eş zamanlı belirlenmiş olan serum ALT düzeyleri hasta dosyaları retrospektif incelenerek kaydedildi.

BULGULAR

Toplam 528 örneğin 221'i (%42) HCV RNA pozitif olarak bulundu. HCV RNA pozitif olarak bulunan 221 serum örneğinin 19'u (%8.6) anti-HCV negatif olarak saptandı. HCV RNA negatif olan 307 serum örneğinin ise 161'inde (% 52.4) anti-HCV pozitif olarak tespit edildi (Tablo 1). Toplam 355 anti-HCV pozitif örneğin 194'ünde (%54.6) HCV RNA pozitif saptandı.

Toplam 528 serum örneğinin 200'ünde (%38) ALT değerlerinin 25 IU/mL altında olduğu gözlemlendi. Hastaların belirlenen ALT düzeyleri HCV RNA sonuçları açısından değerlendirildiğinde; HCV RNA pozitif bulunan örneklerin %21.7'sinde (48/221) ve anti-HCV pozitif saptanan örneklerin ise %40'ında (142/355) ALT değerleri 25 IU/mL altında olarak saptandı. HCV RNA pozitif olarak saptanan hastaların %49.3'ünde (109/21), anti-HCV pozitif olarak saptanan hastaların ise %62.8'inde (223/355) ALT değerlerinin normal sınırlarda (40 IU/mL altı) olduğu saptandı. HCV RNA pozitif olarak saptanan örneklerin %22'sinde (48/221), anti-HCV pozitif örneklerin %40'ında (142/355), HCV RNA ve anti-HCV birlikte pozitif örneklerin %42'sinde (81/194); HCV RNA negatif,

anti-HCV pozitif örneklerin ise %10.6'sında (17/161) ALT değerleri 50 IU/mL üzerinde saptandı.

Serum örneklerinin anti-HCV, HCV RNA durumları ve ALT düzeyleri karşılaştırılarak Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Anti HCV, HCV RNA ve serum ALT düzeylerinin karşılaştırılması.

	Örnek sayısı (n)	ALT DÜZEYİ (IU/mL)							
		<25 [n (%)]	25-39 [n (%)]	40-49 [n (%)]	50-99 [n (%)]	100-199 [n (%)]	200-399 [n (%)]	>399 [n (%)]	
HCV RNA (+)	Anti-HCV (+)	194	40 (21)	53 (27)	20 (10)	57 (29)	19 (10)	5 (3)	0 (0)
	Anti-HCV (-)	19	7 (37)	5 (26)	0 (0)	4 (21)	1 (5)	2 (11)	0 (0)
	Anti-HCV şüpheli	8	1 (13)	3 (38)	0 (0)	1 (13)	3 (38)	0 (0)	0 (0)
HCV RNA (-)	Anti-HCV (+)	161	102 (63)	28 (17)	14 (9)	10 (6)	4 (2)	0 (0)	3 (2)
	Anti HCV (-)	139	48 (35)	28 (20)	7 (5)	29 (21)	12 (9)	7 (5)	8 (6)
	Anti HCV şüpheli	7	2 (29)	2 (29)	0 (0)	1 (14)	1 (14)	1 (14)	0 (0)
Toplam	528	200 (38)	119 (23)	41 (8)	102 (19)	40 (8)	15 (3)	11 (2)	

HCV RNA pozitif saptanan serum örneklerinin %8.6'sında (19/221) anti-HCV negatif olarak saptanmıştır. Bu hastaların 14'ünün (14/19) yedek serumları kullanılarak testler tekrar edilmiş, beşinde ise serum miktarının yetersizliğine bağlı olarak doğrulama yapılamamıştır.

TARTIŞMA

Hepatit C infeksiyonunun laboratuvar tanısında, virusa karşı oluşan antikorların immunolojik yöntemlerle gösterilmesinin yanı sıra viral nükleik asitin moleküler yöntemlerle belirlenmesi hastalığın tanısında, tedavi ve prognozunun takibinde önem taşımaktadır (7).

“Enzim Immün Assay” (EIA) testleri, kullanımının kolay ve ucuz oluşları nedeniyle tanıda ilk tercih edilecek testlerdir. Ülkemizde anti-HCV tanı ve tarama testi olarak genellikle üçüncü kuşak EIA testleri kullanılmaktadır (8, 9). Bizim de çalışmamızda kullandığımız üçüncü kuşak testler, kor ve NS3 bölgesinden proteinler yanında NS5 bölgesinden de bir rekombinant protein içermekte, bu durum testlerin duyarlılık ve özgüllüğüne olumlu katkıda bulunmaktadır (10, 11).

Akut dönemde, inaktif infeksiyon varlığında, anti-HCV ve ALT düzeyleri her zaman yol gösterici olmamaktadır (4, 6). Bu nedenle özellikle zayıf pozitif sonuçların ve/veya klinik ile uyumlu olmayan vakaların doğrulama testlerinin yapılması önem kazanmaktadır (10, 11, 12). HCV RNA'nın hasta serumunda PZR yöntemi ile gösterilmesi

özellikle anti-HCV serolojik belirteci negatif olanlarda aktif HCV infeksiyonunun en önemli kanıtıdır (13, 14).

Çalışmamızda HCV RNA pozitif saptanan serum örneklerinin %8.6'sında anti-HCV negatif olarak saptanmıştır. Anti-HCV negatif hastalarda; HCV RNA varlığı durumunda bu hastaların önemli bir bölümünde immunosupresyon söz konusu olabileceği ve bu durumun antikor yanıtındaki yetersizliğe bağlı olabileceği belirtilmiştir (15, 16, 17). Ayrıca antikor saptanamayan olgularda HCV RNA'nın gösterilmesi hastaların virus ile karşılaşma sürelerinin uzunluğuna göre değişiklik göstermektedir. Hepatit C virus infeksiyonun seyri sırasında bazen serumda HCV antikorunu saptanmaya kadar uzun bir seronegatif dönem bulunmaktadır (18). Bu nedenlerle, anti-HCV negatif olan serumlardaki HCV RNA varlığının, bu hastalardaki antikor yanıtının henüz gelişmemesi veya yetersizliğine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bunun yanında bu örneklerin bir kısmında kontaminasyon gibi olası laboratuvar hatalarına bağlı yalancı pozitiflik olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

HCV RNA negatif olan hasta serum örneklerinin %52'sinde anti-HCV pozitif olarak tespit edilmiştir. Bunun nedeni; geçirilmiş HCV infeksiyonu sonucu antikor pozitifliğinin devamı, serumda viral nükleik asit elde edilmesini engelleyen faktörlerin varlığı, kanda gerçek zamanlı PZR ile saptanamayacak kadar düşük titrede virusun bulun-



ması veya viremide dalgalanmalar olması olabilir. Çalışmamızda kullanılan PZR kitlerinde inhibisyonu saptamaya yarayan internal kontrol bulunduğu da akılda tutulmalıdır (14). Anti-HCV antikorlarının varlığı, bireyin HCV ile karşılaşmış olduğunu göstermekteyse de, tek başına akut bir infeksiyon varlığını göstermekte yetersiz kalmaktadır. Ayrıca serolojik testlerle düşük risk gruplarında ve otoimmün hastalığı olanlarda çapraz reaksiyon veren antikorlara bağlı yalancı pozitif sonuçlar da bildirilmiştir (19). “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC) yalnız anti-HCV tarama testinin pozitif olması durumunda doğrulama testlerinin “Recombinant Immunoblot Assay” (RIBA) gibi daha özgül serolojik testler ve nukleik asit testleriyle yapılmasını önermektedir (20).

HCV RNA ve anti-HCV sonuçlarımız karaciğer enzimleri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde; toplam örneklerin %38’inde, HCV RNA pozitif bulunan örneklerin %22’sinde ve anti-HCV pozitif saptanan örneklerin ise %40’ında ALT değerleri çok düşük düzeylerde (25 IU/ml altında) saptanmıştır. Buna karşın HCV RNA ve anti-HCV birlikte pozitif olarak saptanan örneklerin %42’sinde; HCV RNA negatif fakat anti-HCV pozitif örneklerin ise %11’inde ALT değerleri normalin üzerinde bulunmuştur. Anti-HCV pozitifliği ve ALT düzeyleri ile HCV RNA pozitifliği arasında birebir ilişki kurulamamış ve HCV infeksiyonu olan hastaların tanı ve takiplerinde bu testlerin tek başına yetersiz kaldığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak; HCV infeksiyonlarının tanısında ve takibinde Anti-HCV ve ALT düzeyleri her zaman yol gösterici olmamaktadır. HCV RNA varlığının gösterilmesi, özellikle HCV ile infekte fakat anti-HCV serolojik belirtici negatif olan veya ALT düzeyleri normal olan hastaların saptanmasında çok değerli bir yöntemdir. HCV infeksiyonlarında Anti-HCV pozitifliği, ALT düzeyleri ve HCV RNA pozitifliği birlikte araştırılarak değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Wilber JC. *Hepatitis C virus*. Murray PR (ed). *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington: American Society of Microbiology (ASM), 1995: 1050-5.
2. Purcel R. *The hepatitis C virus: overview*. *Hepatology* 1997; 26: 11-4.
3. Sharara AI, Hunt CM, Hamilton JD. *Hepatitis C*. *Ann Intern Med* 1996; 125: 658-68.
4. Badur S. *HCV infeksiyonlarının laboratuvar tanısı (alternatif yaklaşım)*. Bozyaka E, Yılmaz G, Badur S (eds). *Klinik viroloji ve viral infeksiyonların laboratuvar tanısı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1996: 49.
5. Major ME, Feinstone MS. *The molecular virology of hepatitis C*. *Hepatology* 1997; 25: 1527-38.
6. Nolte FS, Thurmond C, Fried MW. *Preclinical evaluation of AMPLICOR hepatitis C virus test for detection of hepatitis C virus RNA*. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1775-8.
7. Alter MJ, Kuhnert WL, Finelli L. *Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus*. *Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep* 2003; 52: 1-13.
8. Haşçelik G, Ustaçelebi Ş, Us D. *Hepatitis C virus (HCV) RNA’ sı pozitif olan hastalarda üçüncü kuşak enzim immunoassay yönteminin değerlendirilmesi*. 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, 1998: 133.
9. Us T, Akgün Y, Kural M. *RT-PCR ve üçüncü kuşak ELISA yöntemleriyle saptanan HCV-RNA ve Anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması*. *Viral Hepatit Dergisi* 2001; 2: 298.
10. Oethinger M, Mayo DR, Falcone J, Barua PK, Griffith BP. *Efficiency of the ortho VITROS assay for detection of hepatitis C virus-specific antibodies increased by elimination of supplemental testing of samples with very low sample-to-cutoff ratios*. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2477-80.
11. Dufour DR, Talastas M, Fernandez MD, Harris B. *Chemiluminescence assay improves specificity of hepatitis C antibody detection*. *Clin Chem* 2003; 49: 940-4.
12. Ismail N, Fish GE, Smith MB. *Laboratory evaluation of a fully automated chemiluminescence immunoassay for rapid detection of HBsAg, antibodies to HBsAg, and antibodies to hepatitis C virus*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 610-7.
13. Garson JA. *The polymerase chain reaction and hepatitis C virus diagnosis*. *FEMS Microbiol Rev*. 1994; 14: 229-39.
14. Albadalejo J, Alonso 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* 1998; 36: 862-5.
15. Pawlotsky JM. *Use and interpretation of virological tests for hepatitis C*. *Hepatology*. 2002; 36: S65-73.
16. Thio CL, Nolt KR, Astemborski J, Vlahov D, Nelson KE, Thomas DL. *Screening for hepatitis C virus in*



- human immunodeficiency virus-infected individuals. J Clin Microbiol. 2000; 38: 575-7.*
17. Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology. 2002; 122: 1554-68.*
18. Türkođlu S. Viroloji ve seroloji. Kılıçturgay K, Badur S (eds). *Viral Hepatit 2001. 1. Baskı. İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneđi, 2001: 182.*
19. Schröter M, Feucht HH, Schafer P, Zöllner B, Polywka S, Laufs R. Definition of false positive reactions in screening for HCV antibodies. *J Clin Microbiol 1999; 37: 233-4.*
20. CDC. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Recomm Rep 1998; 47: 1-39.*

YAZIŞMA ADRESİ

Dr. Canan KÜLAH
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
ZONGULDAK
e-mail: canankulah@yahoo.com