

**K.K.T.C
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HEPATİT B'NİN TANISINDA KULLANILAN S/CO VE IU/ML
DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Ulaş HÜRDOĞANOĞLU

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LEFKOŞA
2018**

K.K.T.C
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HEPATİT B'NİN TANISINDA KULLANILAN S/CO VE IU/ML
DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ulaş HÜRDOĞANOĞLU

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hüseyin Kaya SÜER

LEFKOŞA
2018

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Turgut İMİR
Yakın Doğu Üniversitesi

Danışman: Doç. Dr. H. Kaya SÜER
Yakın Doğu Üniversitesi

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mümtaz GÜRAN
Doğu Akdeniz Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği' nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve enstitü yönetim kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. K. Hüsnü Can BAŞER
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim ve tez sürecimde bana büyük katkısı olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan, olumsuzluğa kapıldığım zamanlarda beni motive eden, olumsuz düşüncelere kapılmamı engelleyen ve danışmanım olmasından sonsuz mutluluk ve gurur duyduğum Doç. Dr. Kaya Süer'e,

Yakın Doğu Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Turgut İmir'e desteklerinden dolayı,

Her zaman bana destek olup moralimi yüksek tutan ve tez sürecimin en başından en sonuna kadar yanımda olan, moral veren ve yardımlarını asla esirgemeyen sevgili arkadaşım Uzm. Dyt. Seliz Bağcılar'a,

Tez çalışmalarım boyunca hiçbir yardımı ve emeği esirgemeyen, hiçbir karşılık beklemeden bana yardımcı olan Osman Yetkin, Emrah Güler, Mehmet Özdoğaç ve Ünal Sümer'e,

İyi günde ve kötü günde her zaman yanımda olan, bir an bile düşünmeden her türlü yardımına koşan sevgili dostum Erkan Mındık'a,

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak hiçbir desteği benden esirgemeyen, bana her konuda sonsuz güvenen ve her zaman yanımda olan babam Hüseyin Hürdoğanolu'na , annem Betül Hürdoğanolu'na ve kardeşim Doğuş Hürdoğanolu'na sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Hürdoğanolu, U. Hepatit B'nin Tanısında Kullanılan S/CO ve IU/ML Değerlerinin Karşılaştırılması. Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Lefkoşa, 2018.

Hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte olmuş hastalarda tanı koyarken farklı parametrelerde çalışmalar yapmak hastalığın daha etkili bir şekilde tanımlanması açısından önemlidir. Bu çalışmada Hepatit B'nin ölçümler arasındaki korelasyon ve bağlantısının kurulması ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC)'ndeki Hepatit B hastalarının tanısında kullanılan farklı parametrelerin arasındaki korelasyon ilişkisinin incelenmesini amaçladık. Ocak 2016-2018 tarihleri arasında Yakın Doğu Üniversitesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na başvuran ve HBsAg pozitif tanı konulan hastaların serum örnekleri çalışmaya alınmıştır. Çalışmamızda kalitatif değerler < 1000 S/CO, 1000-1999 S/CO, 2000-2999 S/CO, 3000-3999 S/CO ve >4000 S/CO olarak 5 farklı gruba ayrıldı ve ABBOTT ARCHITECT i2000SR cihazında iki farklı tanı parametresi olan S/CO ve IU/ML kitleriyle üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı. S/CO'ları 5 farklı gruba ayrılan numunelerin kantitatif değerleri incelendi ve çıkan sonuçlara göre kantitatif değerler ile kalitatif değerler arasındaki korelasyon incelendi. Korelasyon araştırması yapılırken Spearman korelasyon testi kullanıldı ve iki parametre arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı (-0.25). S/CO ve IU/ML birimleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamasının ardından bu iki parametre arasında regresyon analizi yapıldı. Regresyon analizi ise ANOVA testi kullanılarak yapıldı. Regresyon analizine bakıldığı zaman korelasyon analizine benzer olarak herhangi bir anlamlı değere ulaşılamadı (-0.005). Bizim yaptığımız çalışmada hastalığın fazını gösteren herhangi bir parametre kullanılmamıştır. Hastalığın fazıyla ilgili herhangi bir parametre kullanılmadan sadece IU/ML ve S/CO parametreleri kullanılmış olduğundan korelasyon ve regresyon saptanamamıştır. Bu nedenle korelasyonun olup olmadığının kesin olarak saptanabilmesi için bu çalışmanın parametreleri genişletilerek yeni bir çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Bu genişletilmiş parametreler arasında karaciğer fonksiyon testleri gibi belirleyici testler, kronik Hepatit B'nin hangi fazda olduğunu gösteren laboratuvar incelemeleri (HBeAg, AntiHBe, ALT, AST, HBV-DNA, karaciğer inflamasyon düzeyini gösteren ultrasonografi

ve karaciğer biyopsisi) bulunmaktadır. Daha ileri seviyede analiz yapılabilmesi için bu parametreler dikkate alınarak daha hassas çalışma yapılması önerilir.

Anahtar Kelimeler : Hepatit B Virüs, S/CO, IU/mL, ELISA , KKTC

ABSTRACT

Hurdoganoglu, U. Comparison of S/CO and IU/ml Values Used in Diagnosis of Hepatitis B. Near East University Institute of Health Sciences Medical Microbiology and Clinical Microbiology Program, M.Sc. Thesis, Nicosia, 2018.

Studying different parameters in diagnosed patients infected with hepatitis B virus (HBV) is important in order to identify the disease more effectively. In this study, we aimed to investigate the correlation and relationship between the different parameters of hepatitis B measurements which are used in the diagnosis of hepatitis B patients in the Turkish Republic of Northern Cyprus (TRNC). Serum samples of patients who applied to the Near East University Hospital, Microbiology Laboratory and diagnosed as HBsAg positive were taken to the study between January 2016 and 2018. In our study, 5 different groups were assigned as qualitative values <1000 S/CO, 1000-1999 S/CO, 2000-2999 S/CO, 3000-3999 S/CO and > 4000 S/CO, S/CO and IU/ml are tested which are two different diagnostic parameters on ABBOTT ARCHITECT i2000SR, according to manufacturer's recommendations. The quantitative values of the S/CO which are separated into five different groups were analyzed and the correlation between the quantitative values and the qualitative values was examined according to the results. Spearman correlation test was used for evaluating the correlation and no correlation was found between the two parameters (-0.25). Regression analysis was performed between these two parameters after no correlation between S/CO and IU/ml units. Regression analysis was performed by using ANOVA test. No significant value could be reached from the regression analysis, similarly the correlation analysis (-0.005). In our study, any parameter showing the phase of the disease have not used. Correlations and regression could not be established since only the IU/ml and S/CO parameters were used without using any parameters related to the phase of the disease. Therefore, further studies should be done by expanding the parameters of this study in order to determine precisely whether or not there is a correlation. These extended parameters include determinants such as liver function tests, and laboratory studies (HBeAg, AntiHBe, ALT, AST, HBV-DNA, ultrasonography which is used for determining the level of liver inflammation and liver biopsy) that show which phase of

chronic hepatitis B. More precision studies recommended to be done in order to do more advanced analysis by taking these parameters into account.

Key Words: Hepatitis B Virus, S CO, IU/ mL, ELISA, TRNC

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Taksonomi	4
2.3. Hepatit B'nin Virüs Yapısı ve Genomik Yapısı	4
2.4. Hepatit B Genotip/Subgenotipleri	8
2.5. Epidemiyoloji	12
2.5.1. Bulaş Yolları	12
2.5.1.1. Parenteral (Perkütan) Yol	12
2.5.1.2. Seksüel Yol	13
2.5.1.3. Perinatal (Vertikal) Yol	13
2.5.1.4. Horizontal Yol	14
2.5.2. Risk Grupları	14
2.5.3. Korunma	16

2.5.3.1. Davranış Değişikliği	16
2.5.3.2. Pasif İmmünoprofilaksi	16
2.5.3.3. Aktif Bağışıklanma	17
2.5.4. Klinik Tablo	19
2.5.4.1. Akut Hepatit B	19
2.5.4.2. Kronik Hepatit B	20
2.5.5. Tanı	21
2.5.5.1. HbsAg (Hepatit B Yüzey Antijeni)	22
2.5.5.2. HbeAG ve AntiHbe (Hepatit B e Antijeni ve Hepatit B e Antikoru)	22
2.5.5.3. Anti HBc IgM (HBc Antijenine Karşı IgM Antikoru)	22
2.5.5.4. AntiHBc IgG ve Total Anti-HBc (HBc Antijenine Karşı IgG Antikoru ve Total Hepatit B Antikoru)	22
2.5.5.5. Anti HBs (Hepatit B Yüzey Antikoru)	23
2.5.5.6. HBV DNA	23
2.5.6. Dünya’da Hepatit B Virüsü	23
2.6. Tedavi	24
2.7. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	25
2.7.1. Genel Çalışma Prensipleri	26
2.7.2. ELISA’nın Tipleri	27
2.7.2.1. Direkt ELISA	27
2.7.2.2. İndirekt ELISA	28
2.7.2.3. Sandviç ELISA	28
2.7.2.4. Kompetitif ELISA	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Numuneler	30

3.2. Kitler	30
3.3. Cihazlar	31
3.4. İstatistik	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
KAYNAKLAR	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	Alanin Aminotransferaz
Anti HBc	Anti Hepatit B Çekirdek Antijeni
Anti HBs	Hepatit B Yüzey Antikoru
Anti-HBcIgM	HBc Antijenine Karşı IgM Antikoru
AST	Aspartat Aminotransferaz
dL	Desilitre
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EIA	Enzyme Immunoassay
ELISA	Enzym-Linked Immunosorbent Assay
HBcAg	Hepatit B Çekirdek Antijeni
HBcAg	Hepatit B e antijeni (Hepatitis B early antigen)
HBIG	Hepatit B İmmün Globülini
HBsAg	Hepatit B Yüzey Antijeni
HBV	Hepatit B Virüsü
HCC	Hepatoselüler Karsinoma
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü)
IU	International unit
kg	kilogram
L-HBsAg	Büyük HBsAg Antijeni
M-HBsAg	Orta HBsAg Antijeni
M.Ö	Milattan Önce
mcg	Mikrogram
mg	miligram
ml	mililitre
nm	Nanometre
ORF	Open Reading Frame (Açık Okuma Çerçevesi)
PCR	Polimerase Chain Reaction/Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RIA	Radio Immunoassay
RLU	Relative Light Units
RT	Reverse Transkriptaz
S-HBsAg	Küçük HBsAg Antijeni

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.3.1. Hepatit B Virüsünün Şematize Edilmiş Yapısı	5
Şekil 2.3.2. HBV Partiküllerinin Elektron Mikroskobu Görüntüsü	6
Şekil 2.3.3. Hepatit B Virüsünün Genom Organizasyonu	8
Şekil 2.4.1. HBV'nin Genotip ve Subgenotiplerine Göre Dağılımı	10
Şekil 2.7.2.1. Direkt ELISA Metodu	27
Şekil 2.7.2.2. İndirekt ELISA Metodu	28
Şekil 2.7.2.3. Sandviç ELISA Metodu	29
Şekil 2.8.2.4. Kompetitif ELISA Metodu	29

TABLolar**Sayfa**

Tablo 2.4.2. HBV'nin Genotip ve Subtiplerine Göre Dünya Üzerindeki Dağılımı	11
Tablo 2.5.2.1. HBV Enfeksiyonu Bulaşma Yolları ve Bulaşma Yollarına Göre Risk Grupları	15
Tablo 2.5.3.1. Hepatit B Aşısı Önerilen Kişiler ve Gruplar	18
Tablo 4.1. Olguların Cinsiyete Göre Gruplandırılmış Hali	33
Tablo 4.2. Çalışma Grubunu Oluşturan Olguların Uyruklarına Göre Gruplandırılmış Hali	34
Tablo 4.3. Çalışmaya Alınan Numunelerin S/CO Değerlerine Göre Gruplandırılmış Hali	35

1.GİRİŞ

Viral hepatitler ve HIV (Human Immunodeficiency Virus/İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü) yüksek yayılım ve tedavi edilemeyen durumlarda büyük ölüm oranına neden olan, halk sağlığı ve ülke ekonomisi açısından önemli bir sağlık sorunu olarak tüm dünyaya yayılmıştır. Viral hepatitler arasından kronik karaciğer hastalığı ve HCC (Hepatoselüler Karsinoma) gelişmesi riskinden dolayı özellikle Hepatit B ve Hepatit C büyük öneme sahiptir. Gelişmiş ülkelerde kronik karaciğer hastalığının oluşmasındaki en büyük sebep özellikle alkol tüketiminin fazla olmasına bağlanmaktadır. Az gelişmiş ülkelerde ve gelişmekte olan ülkelerde ise bunun sebebi viral hepatitlerdir (Tekin ve Aydoğdu, 2011).

Dünya üzerinde yaklaşık olarak iki milyar kişinin HBV (Hepatit B Virüsü) ile karşılaştığına dair veriler bildirilmektedir. Bu popülasyon arasında yaklaşık olarak 350-400 milyon kişide kronik enfeksiyon olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında HBV ile ilişkili karaciğer hastalıklarından dolayı her yıl 1 milyon'a yakın insan hayatını kaybetmektedir (Dursun ve Albayrak, 2016). Hepatit B virüsü enfekte olduğu kişide akut, fulminan ya da kronik hepatit şeklinde belirtiler gösterebildiği gibi daha ciddi klinik vakalar olan karaciğer sirozu ya da hepatoselüler karsinoma yol açabilir (Arıkan ve Şanlıdağ, 2016).

Akut Hepatit B, kişinin HBV ile enfekte olmasından itibaren yaklaşık 42 gün ile 180 gün arasında değişen bir inkübasyon sürecinden sonra gelişir ve asemptomatik enfeksiyondan fulminan hepatite kadar değişebilen farklı klinik tablolarda ortaya çıkmaktadır. Bir kişiye akut hepatit B teşhisi konmasından sonra 6 aydan kısa bir süre içerisinde iyileşmesi beklenir. Eğer bir iyileşme gözlenmezse enfeksiyonun kronikleştiği kabul edilir ve kronik hepatit B teşhisi konulur. Kronik HBV hastalarında enfeksiyon seyri değişiklik gösterebilir. Bazı hastalar bütün yaşamları boyunca virüsü taşırlar fakat herhangi bir karaciğer fonksiyon bozukluğu ile karşılaşmazlar. Bazı hastalarda ise enfeksiyon çok kısa bir süre içerisinde karaciğer yetmezliği gibi ciddi sorunlara yol açmaktadır (Sonsuz, 2007).

Hepatit B virüs enfeksiyonuna bağlı olarak gelişen akut karaciğer yetmezliğine ise fülminan Hepatit B denir. Fülminan Hepatit B; akut Hepatit B enfeksiyonuna, kronik Hepatit B reaktivasyonuna ve hepatit D virüsünün süperenfeksiyonuna bağlı olarak gelişme gösterebilir (Aydın ve diğ., 2013).

Hepatit B virüsü genotip ve subgenotip olarak farklılıklar göstermekte, bu farklılıklara göre de değişik coğrafyalarda bulunmaktadır. Hepatit B virüsü genotipleri A'dan J'ye olmak üzere toplam 10 tanedir. Genotip A, Sahraaltı Afrika, Kuzey Avrupa ve Batı Avrupa; genotip B, Tayvan ve Vietnam; genotip C, Çin, Japonya ve Kore; genotip D, Hindistan, Avrupa, Afrika ve Akdeniz ülkeleri; genotip E, Batı Afrika; genotip F, Orta ve Güney Amerika; genotip G, Fransa, Almanya ve Amerika Birleşik Devletleri; genotip H, Orta Amerika; son keşfedilen iki genotipten biri olan genotip I, Vietnam ve Laos; bir diğeri genotip J ise Japonya'da saptanmaktadır (Akhan ve diğ.,2014).

Hepatit B hastalarının tanısında kullanılan farklı parametreler mevcuttur. Bu parametrelerden bir tanesi kalitatif sonuç veren S/CO diğeri ise kantitatif sonuç veren IU/ml'dir. Kalitatif sonuç elde ettiğimiz S/CO oranı, numunenin sinyal kuvvetinin ve dahili bir kesmenin sinyal gücünün ölçülmesiyle elde edilmiş bir orandır ve $S/CO \geq 1$ olan numuneler üretici tarafından pozitif olarak tanımlanmıştır. Kantitatif sonuç elde ettiğimiz IU/ml ise sayısal değer olarak sonuç verir ve üretici firma tarafından $IU/ml \geq 0.05$ olduğunda pozitif olduğuna kabul edilir (Seth, 2012; Peng ve diğ., 2011)

Bu çalışma ile; Hepatit B'nin ölçümler arasındaki korelasyon ve bağlantısının kurulması ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC)'ndeki Hepatit B hastalarının tanısında kullanılan farklı parametrelerin arasındaki korelasyon ilişkisi incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

İlk olarak M.Ö. beşinci yüzyılda tanımlanmış olan viral hepatit çoklu nedenlere sahip olan bir hastalık olarak Hipokrat tarafından tanımlanmıştır. Hipokrat epidemik sarılığı tanımladığında, akut Hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte olmuş kişilere ve karaciğeri enfekte edebilen diğer ajanlara şüphesiz olarak başvurmuştur. Sarılık salgınları tarih boyunca tanımlanmıştır ve özellikle 19. ve 20. yüzyıllarda çeşitli savaşlarda rastlanmıştır. Bu salgınların birçoğu Hepatit A'ya bağlı salgınlar olarak ortaya çıksa da Hepatit B'nin de kanla bulaşan bir hastalık olduğu düşünüldüğünde, Hepatit B salgınlarının da kan içeren ürünlerin kullanımının olduğu ortamlarda ortaya çıkmış olması muhtemeldir. İlk kez Almanya'nın Bremen şehrinde gemi çalışanlarının aşılansması sırasında Hepatit B formunun tanınması Lurman tarafından belgelenmiştir. Bu salgınlar devam etmekteydi ve 20. yüzyılın ilk bölümünde hepatit salgınları, diyabet ve tüberküloz için hastaneye başvuran kişiler dahil olmak üzere çeşitli risk gruplarında tanımlanmıştır. Kan nakli yapılan hastalar, kabakulak veya kızamık korunma aşısı yaptıran kişilerde ve insan serumu içeren sarı humma aşısı alan askeri personelde bu salgınlar görülmüş ve özellikle II. Dünya Savaşı sırasında ciddi sorunlara yol açmıştır (Mahoney, 1999).

Yapılan çalışmalardan sonra; MacCallum ve Bauer Hepatit A ve Hepatit B diye iki virüsün bulunduğunu 1947 yılında bildirmişlerdir. Daha sonra Dünya Sağlık Örgütü 1973 yılında bu terimleri onaylamışlardır (Mahoney, 1999; Akıncı,2015).

1960'ların başlarında Blumberg ve arkadaşları insan serum lipoprotein allotipleri üzerinde çalışıyorlardı. 1965 yılında bir amerikalı hemofili hastasının serumundaki antikör ile reaksiyona giren bir Avustralya Aborjin'inden alınan serum test edilince Hepatit B keşfedildi. Çalışmada Avustralya Aborjin'inin antijeni kullanıldığından dolayı ilk olarak Avustralya Antijeni olarak isimlendirildi (Simon, 1971).

1970 yılına gelindiğinde Dane DS ve arkadaşları elektron mikroskopisi tekniği yardımıyla hasta serumlarını incelediklerinde yüzeylerinde aynı antijeni taşıyan ve virüse benzeyen partiküller saptamışlardır. Bu partiküllerin Hepatit B virüsü ile alakalı olduğunu iddaa etmişlerdir ve bu partiküllere "Dane Partikülleri" adını

vermişlerdir. Bu partiküller 42 nm büyüklüğündedir ve Hepatit B virüsünün enfeksiyöz kısmıdır. Bunların dışında 22 nm'lik küresel ve 22 x 100-200 nm büyüklüğündeki filamentöz partiküller de elektron mikroskobu yardımıyla tarif edilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise yapılan çalışmalarda virüsün genomik yapısı ve proteinleri karakterize edilmiştir (Dane DS. ve diğerleri, 1970).

2.2. Taksonomi

Hepadnavirüsler memelilerde (ortohepadnavirüsler) ve kuşlarda (avihepadnavirüsler) olmak üzere iki çeşittir. Ortohepadnavirüsler (memeli) insanlarda ve büyük maymunlar, yünlü maymunlar, ağaçkakanlar, yer sincapları, kutup sincapları ve Richardson sincapları'nda görülürken, kuş hepadnavirüsleri arasında ördek HBV, balıkçıl HBV, Ross kazı HBV, kar kazı HBV, leylek HBV'leri bulunur. Ortohepadnavirüs ve avihepadnavirüsler genomik yapı olarak benzerlik gösterse de sekans benzerlikleri bazı alanlar dışında minimal benzerlik gösterirler (Schaefer, 2007; Guo ve diğ.,2005).

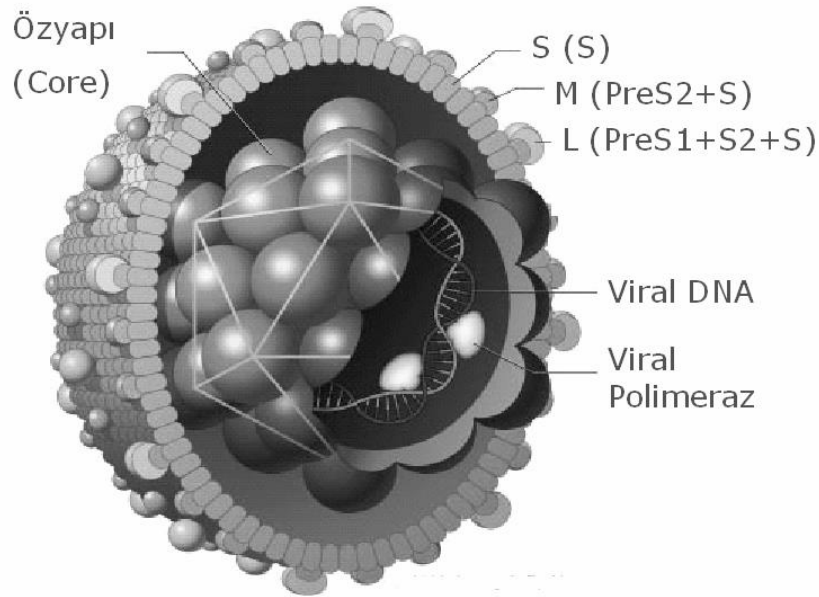
Hepadnaviridae ailesinin Orthohepadnavirus cinsinde yer alan Hepatit B virüsü (HBV) ise hepatotropik, zarflı ve kısmen çift sarmallı bir DNA virüsüdür (Özdemir ve Balık, 2002). Ayrıca Hepatit B virüsü aynı aile içerisinde bulunan diğer üyelerden farklı olarak insanlarda enfeksiyon yaratan tek türdür (Arslan ve diğ., 2008).

2.3. Hepatit B'nin Virüs Yapısı ve Genomik Yapısı

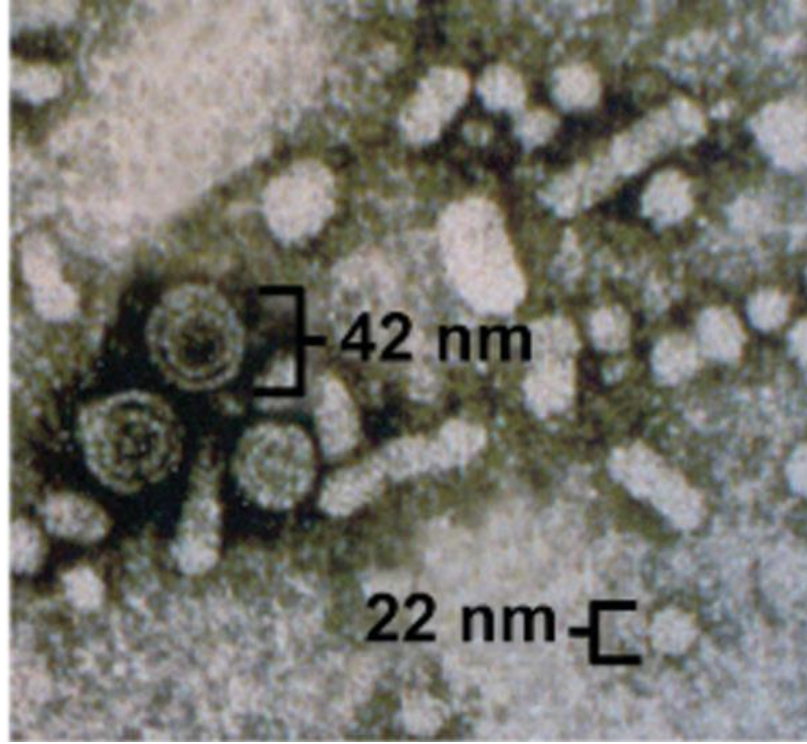
Elektron mikroskobunda incelendiğinde Hepatit B virüsünde 3 tip viral partikül görülmektedir. Bu viral partiküllerden ikisi 20 nm çapta ve 22 nm genişlikte olan değişik uzunluktaki filamanlara sahip olan küresel yapılardır. Bu küreler ve filamanlar Hepatit B yüzey antijeni dediğimiz Hepatit B yüzey antijeni (HbsAg) ve viral nükleik asitleri içermeyen konaktan türetilmiş lipitlerden oluştuğu için enfeksiyöz değildir. Enfeksiyöz olan kısım ise bir lipit zarfı içeren, 42 nm çapında, küresel ve çift kabuklu bir yapıya sahip olan " Dane partikülü"dür. Dane parçacığı, nükleik asit içerdiği bilinen tek viral antijen formudur ve viral deoksiribo nükleik asit (DNA) ile kodlanmış DNA polimeraz ile DNA genomu ile kompleks haline

getirilmiş Hepatit B çekirdek antijeninden (HBcAg) oluşan bir iç nükleokapsidi çevreleyen HbsAg içerir (Liang, 2009 ; Hruska ve diğ.,1977).

HBsAg L (geniş), M (orta) ve S (küçük) olmak üzere üç çeşit proteinden oluşurlar. Bu üç protein de aynı diziyi paylaşır fakat L ve M proteinleri S proteininden farklı olarak değişik uzunluklarda aminocucu uzantılarına sahiptirler. L-HBsAg; pre-S1 ve pre-S2 bölgelerini, M-HbsAg yalnızca pre-S2 bölgesini içermektedir. Ayrıca HbcAg proteinlerinden oluşan 37 nm çapında, DNA'yı saran içteki katmana kor partikülü veya kapsit denir. Kandaki titresi 10⁹titre/ml'den 10⁹titre/ml'ye kadar çıkabilmektedir. Kanda bulunan en yaygın virüs parçacıkları virionlar değil, HBsAg'den oluşan ve viral DNA içermeyen 20 nm çaplı küresel partiküllerdir. Aynı zamanda bu boş partiküller DNA içermediklerinden dolayı enfeksiyon özellikleri yoktur (Kesen, 2006; Aşan, 2007).



Şekil 2.3.1. Hepatit B virüsün şematize edilmiş yapısı (Aşan, 2007).



Şekil 2.3.2. HBV partiküllerinin elektron mikroskobu görüntüsü (Sferik, filamentöz partiküller ve Dane partikülü) (Liang, 2009).

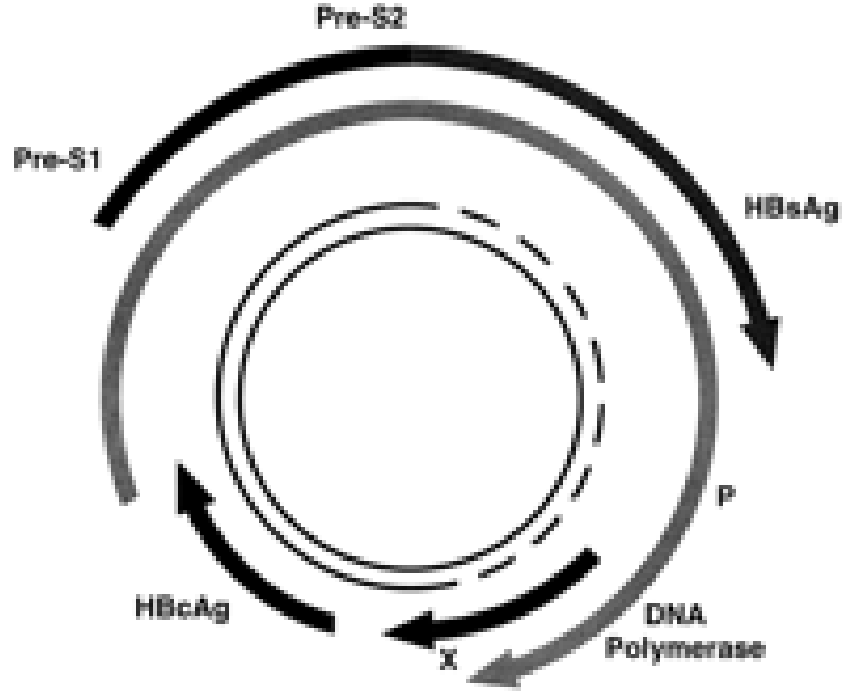
Hepatit B virüsünün genomu William S. Robinson tarafından 1974’de izole edilmiştir. Viral genom yaklaşık olarak 3200 nükleotidden oluşur ve kısmen çift ($\approx\%70$), kısmen tek iplikli ($\approx\%30$) çembersel bir DNA’dan meydana gelen ikozahedral bir kapsid içinde bulunur. Bu kapsidin dışında ise üç farklı yüzey antijenini taşıyan lipid zarf bulunmaktadır. Bu zarf proteinleri; küçük HBs antijeni (S-HBsAg), orta HBs antijeni (M-HBsAg) ve büyük HBs antijeni (L-HBsAg)’den meydana gelir ve karboksi terminalinde yer alan 225 aminoasitleri ortaktır. Bunların üçü de Dane partikülleri üzerinde yer alırlar. Virion zarfın ana proteini S antijenidir. M ve L antijenlerinin miktarları ise yaklaşık olarak eşittir ve zarf içerisindeki proteinlerin $\%30$ ’unu oluştururlar. Aynı zamanda bu zarf proteinlerinden üçü de S domaininde yer alan sistein grupları arasında oluşan disülfit bağlarıyla stabilize edilen glikozile tip 2 transmembran proteini özelliği gösterir (Aşan, 2007; Mahoney, 1999).

Hepatit B virüsünün genomu dört tane ORF (open reading frame) oluşturacak şekilde organize olmuştur. Bunlar birbirleriyle çakışır durumda ve her biri eksi DNA üzerinde kodlanmıştır. Bu dört gen bölgesi birbirleriyle içiçe geçmiş durumdadırlar ve her biri farklı bölgelerden okunmaya başlayarak değişik bölgeleri kodlarlar ve S, C, X ve P bölgeleri olarak isimlendirilirler. C geni iki farklı başlangıç kodonuna sahiptir. Bunlardan bir tanesi pre-C diğeri ise C bölgesidir. Translasyon C başlangıç kodonundan başladığı zaman “core” (nükleokapsid) polipeptidi (HBcAg), pre-C başlangıç kodonundan başladığında ise infektivite proteini (HBeAg) sentezlenir. S geni ise pre-S1, pre-S2 ve S olmak üzere üç farklı başlangıç kodonuna sahiptir. Bu bölgeler virüsün S, M ve L yüzey proteinleri (HBsAg)’ni kodlar. P geni ise viral genomun 4’te 3’ünü oluşturur ve revers transkriptaz aktivitesi olan DNA polimerazı kodlamakla görevlidir. Dördüncü okuma bölgesi olan X geni ise P genine benzer olarak RT (reverse transkriptaz) aktivitesi olan DNA polimerazı kodlar. Aynı zamanda ribonükleaz aktivitesine sahip olan polipeptidi ve transaktivasyon proteini olan x proteinini kodlar (Barçın, 2010; Aşan, 2007; Liang, 2009 ; Aşkar, 2006 ; Elmi, 2007).

HBV DNA’da bulunan genler bazı bölgelerde çakışmış vaziyettedirler. Genomun en uzun geni P genidir. P geni X ve C genleri ile kısmen, S geni ile tamamen çakışmış durumdadır. Sonuç olarak uzun sarmal 1,5 defa okunmaktadır. İşte bu özellikten dolayı Hepatit B virüsü, bilinen hayvan virüsleri içinde en küçük genomik yapıya sahiptir. Ayrıca kendini kodlama kapasitesi en fazla olan virüs olarak bilinmektedir (Kesen, 2006).

HBV genomu içerisindeki bu okuma bölgelerinin dışında iki adet direk tekrar bölgesi bulunur. Bu yapılar 10-12 nükleotit uzunluğunda olup, DR1 ve DR2 olarak adlandırılırlar. Ayrıca bu yapılar virus replikasyonunda büyük öneme sahiptirler. Viral DNA’nın yapısal olarak bütünlüğü bu iki dizinin birbirlerine tutunmasıyla sağlanır. DNA üzerinde EcoRI isminde bir restriksiyon kesim bölgesi bulunur ve bu bölge genomun numaralandırılmasında ilk referans bölge olarak kabul edilmektedir. Ayrıca kor geninin 5’ ucunda viral RNA polimerazın promoter bölgesine bağlanması

için sinyal görevi gören TATA benzeri diziler yer almaktadır (Mahoney FJ., 1999; Kesen, 2006).



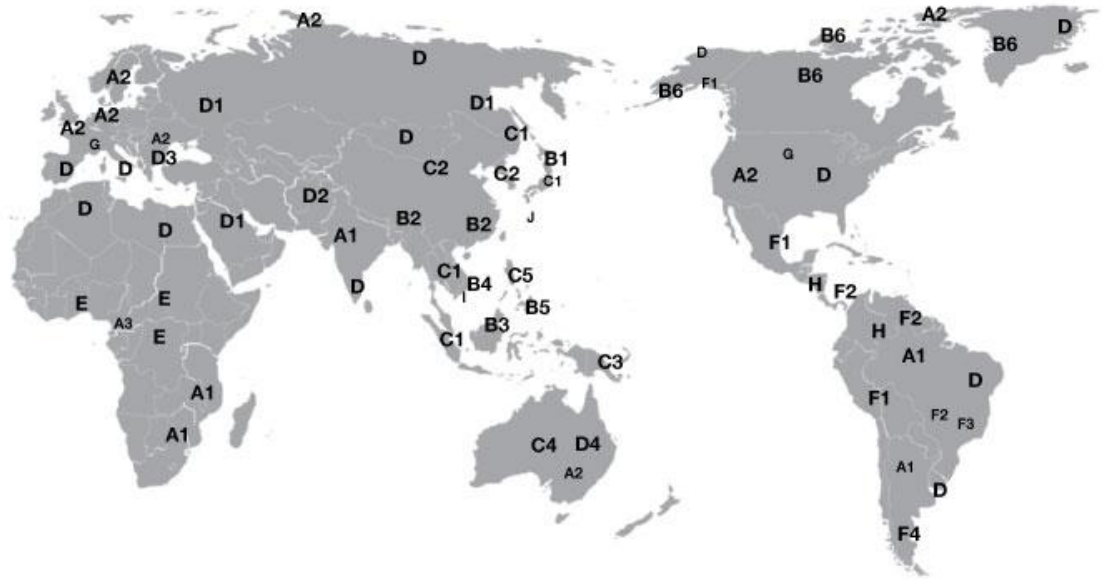
Şekil 2.3.3. Hepatit B virüsünün genom organizasyonu (Mahoney FJ., 1999).

2.4. Hepatit B Genotip/Subgenotipleri

HBV'nin nükleotid dizileri arasındaki farklılıklardan dolayı HBV'nin genomları farklı genotipler olarak tanımlanmıştır (Özdemir ve Balık, 2002). Filogenetik analiz tekniklerine göre tam HBV genomunda; genotipler için gruplar arası sapma $>7.5\%$ ve alt genotipler için $>4\%$ 'dür. Bu farklılıklara göre şu ana kadar HBV'nin 10 genotipi yaklaşık 40 tane de subgenotipi tanımlanmıştır (Arıkan ve Şanlıdağ, 2016; Sayan ve Doğan, 2012).

Bugüne kadar yapılan birçok çalışma farklı genotiplerin ve alt genotiplerin değişik coğrafyalara dağıldığını ve hastalık seyri buna bağlı olarak da antiviral tedaviye yanıt ve prognozun da genotiplere göre değiştiğini göstermiştir (Sunbul,2014). Günümüzde genotip A'nın alt genotipleri 1-5, genotip B'nin alt genotipleri 1-8, genotip C'nin subgenotipleri 1-8 ve genotip D'nin 1-15 alt genotipi tanımlanmıştır (Cao, 2009) .

HBV'nin A genotipinin subtipleri A1, A3, A4 ve A5 Afrika'da, özellikle Batı Afrika'da endemik iken, A2 genotipi Avrupa'da endemiktir. Genotip B ve C Asya ve Pasifik adalarında daha baskın rol oynar. B ve C genotiplerinden B2 ve C2 subgenotipleri Asya'nın birçok bölgesinde endemiktir. Subgenotip B1 ise Japonya'da endemiktir. B3-B8, C1, C3 ve C5-C8 subgenotipleri, Güney Asya'da, özellikle Endonezya ve Filipinler'de izole edilmiştir. Avustralya Aborjin'lerinde subgenotip C4 ile karşılaşılır ve bu subgenotip "Avustralya Aborjin Suşu" olarak adlandırılır. Genotip D, Afrika, Kuzey ve Güney Doğu Asya, Akdeniz bölgesi ve çoğu Avrupa ülkesinde endemiktir. Tüm dünyada yaygın olsa da, D genotipi alt gruplarına göre belirli coğrafyalara özgü olarak dağılmıştır. D1 subgenotipi İran ve komşu Ortadoğu ülkelerinde olduğu gibi Kuzey Kıbrıs ve Türkiye'de de en yaygın subgenotiptir. D2 subgenotipi Doğu Avrupa ve Rusya'da, D3 subgenotipi Sırbistan, Güney Afrika ve Alaska'da yaygın olarak bulunmaktadır. Subgenotip D4, Melanezya, Okyanusya, Avustralya, Yeni Zelanda, Mikronezya ve Polinezya dahil olmak üzere Orta ve Güney Pasifik adalarından; subgenotip D5-D9, Japonya, Hindistan, Endonezya, Tunus ve Nijerya'dan bildirilmiştir. HBV genotip E, Batı ve Orta Afrika'da endemiktir. F1-F4 olarak subtiplendirilen genotip F, Orta ve Güney Amerika Bölgesi'nde daha baskındır. Genotip G ise Fransa, Almanya ve Amerika'dan bildirilmiştir. Genotip H ise Orta Amerika'da bulunmaktadır fakat Türkiye'de de genotip H'ye rastlanmıştır. Son tanımlanan iki genotipten biri olan I genotipi Vietnam ve Laos'tan izole edilmiştir ve genotip A, C ve G'nin genotipik rekombinasyonu olarak ortaya çıkmıştır. Genotip J ise en son tanımlanan genotip olup Japonya'nın Ryukyu adalarında tanımlanmıştır. Aynı zamanda bu genotipin gibbon/orangutan genotipleri ve insan genotip C'siyle yakın ilişkili olduğu bildirilmiştir (Arıkan ve Şanlıdağ, 2016; Cao, 2009; Ural ve diğ., 2013, Kim ve diğ., 2011).



Şekil 2.4.1. HBV'nin genotip ve subgenotiplerine göre dağılımı (Kim ve diğ., 2011).

Tablo 2.4.2. HBV'nin genotip ve subtiplerine göre Dünya üzerindeki dağılımı (Kim ve diğ., 2011).

Genotip	Coğrafi Dağılım
A1	Sahra Altı Afrika, Hindistan, Brezilya, Arjantin
A2	Avrupa, Amerika Birleşik Devletleri, Kuzey Kutbu, Avustralya
A3	Batı Afrika
B1	Japonya
B2-B5	Doğu Asya
B6	Alaska, Kuzey Kanada, Grönland
C1-5	Çin, Kore, Güneydoğu Asya, Japonya, Güney Pasifik Adaları, Avustralya
D1-D4	Rusya, Ortadoğu, Akdeniz, Moğolistan, Kuzey Afrika, Avrupa, Hindistan, Kuzey Kutbu, Güney Amerika
E	Batı ve Orta Afrika
F1	Alaska, Orta Amerika, Güney Amerika, Bolivya
F2-F3	Orta Amerika, Amazon Bölgeleri
F4	Arjantin
G	Avrupa, Amerika
H	Orta Amerika, Amazon Bölgeleri
I	Vietnam ve Laos
J	Ryukyu Adaları (Japonya)

2.5. Epidemiyoloji

2.5.1. Bulaş Yolları

Hepatit B virüsü kan ve vücut sıvılarıyla bir insandan diğerine bulaşmaktadır (Akçalı ve diğ., 2013). En önemli bulaş kaynağı kandır fakat kanla kontamine olmuş ter, tükürük, sperm gibi vücut sıvılarıyla da bulaş mümkündür (Hou ve diğ., 2005). Hepatit B'nin parenteral (perkütan), seksüel, perinatal (vertikal) ve horizontal olmak üzere 4 ana bulaş yolu vardır (Kayabaş ve diğ.,2007).

HBV'nin hava kaynaklı enfeksiyonlardan bulaştığı ve dışkıların bir enfeksiyon kaynağı olmadığı konusunda güvenilir kanıtlar yoktur. Bunun yanı sıra Hepatit B virüsü kontamine olmuş yiyecekler veya su, böcekler veya diğer vektörler tarafından bulaşmaz (Hou ve diğ., 2005).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD) gibi düşük endemisiteli bölgelerde, intravenöz ilaç kullanımı ve korunmasız cinsel ilişki ile bulaş daha yaygındır. Afrika, Alaska ve Akdeniz gibi ülkelere bakılacak olursa çocukluk döneminde horizontal yolla bulaşın daha sık görüldüğü gözlemlenebilir (Elgouhari ve diğ., 2008).

2.5.1.1. Parenteral (Perkütan) Yol

HBV bulaşmasına yol açan en önemli yollardan biri olan perkütan bulaş yolu arasında kan veya kan ürünlerinin transfüzyonu, terapötik enjeksiyonlar için kullanılan kontamine ekipman ve diğer sağlık bakımı prosedürleri, yasa dışı enjeksiyon ilaç kullanımı ve enjektör iğneleri sayılabilir. Bunun yanında hastane personeli tarafından kullanılan keskin aletlerden kaynaklanan yaralanmalar ile dövme ve akupunktur yaptırma gibi durumlarda da bulaş mümkündür (Alter, 2003). Enfeksiyon riski taşıyan kişiler arasında hemodiyaliz hastaları ve bunu gerçekleştiren doktorlar, hemşire ve diğer sağlık çalışanları, laboratuvarında çalışan kişiler, intravenöz uyuşturucu kullanıcıları, polis, itfaiyeci ve enfekte olmuş eşyalar ile potansiyel olarak temas halinde bulunanlar sayılabilir (Hou ve diğ., 2005).

2.5.1.2. Seksüel Yol

Yetişkinler arasında yüksek riskli cinsel aktivite HBV için en sık bulaşma yollarından biridir. Özellikle homoseksüellerin cinsel yolla bulaşma konusunda yüksek risk altında olduğu bilinmektedir. Bu risk grubuna giren kişilerdeki enfeksiyon; alıcı anal ilişki, çoklu partner ve cinsel aktivite sayısı ile ilişkilendirilmiştir. (Eşcinsel erkeklerin %70'i 5 yıllık cinsel aktividen sonra enfekte olmuştur) (Alter, 2003).

Bununla birlikte heteroseksüel ilişkilerde de bulaşın arttığı görülmektedir. Heteroseksüellerde HBV enfeksiyonunun bulaşması da homoseksüellerdekine benzer olarak çoklu partner, cinsel aktivite sayısı ve ek olarak cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü ile sifiliz pozitif kişiler sayılabilir. Aynı zamanda damar içi ilaç kullanan partneri olan kişiler, hayat kadınları ve hayat kadınlarıyla birlikte olan kişilerin partnerleri de yüksek risk grubu altındadır (Hou ve diğ., 2005).

2.5.1.3. Perinatal (Vertikal) Yol

Hepatit B virüsü (HBV) anneden bebeğe kolayca bulaşır. Bu iletimin büyük bir kısmı doğum ve doğum sonrasında asemptomatik HBV taşıyıcılarına neden olur (Alexander ve diğ.,1999). Anneden çocuğa bulaşma, doğum esnasında veya doğum sonrası meydana gelebilen deri ve mukoza sıyrıkları, vajinal kanaldan geçiş sırasında anne kanının yutulması, sezaryen sırasında anne kanıyla temas gibi sebeplerle meydana gelir. Ayrıca %5-10 gibi düşük oranda intrauterin bulaş da söz konusudur (Saveci, 2006). HbeAg pozitif kadınların yenidoğanları taşıyıcıdır ve yüksek oranda siroz ve hepatoselüler karsinom dahil olmak üzere uzun süreli Hepatit B komplikasyonları riski taşımaktadırlar (Batayneh ve Bdour, 2002). Hepatit B immünglobulin ve aşı uygulaması yapılmayan HBeAg pozitif olan kadınlardan doğan bebekler hayatlarının ilk 6 ayında enfeksiyon riski %70 ile %90 arasında değişen yüksek bir orana sahiptir ve bu çocukların yaklaşık %90'ı kronik olarak enfekte kalır. Hepatit B e antijeni (HBeAg) negatif annelerden doğan bebeklerde ise perinatal enfeksiyon riski % 10-40 ile %40-70 arasında değişmektedir (Alter, 2003).

2.5.1.4 Horizontal Yol

Daha çok yüksek endemisiteli bölgelerde yaygın olan horizontal yolun çoğu durumda nasıl iletildiği bilinmemektedir. Parenteral, cinsel ve perinatal yolla HBV'nin bulaşması iyi bir şekilde belgelenmiştir, fakat bu yollardan biri olmaksızın bulaşım söz konusu olduğu durumlarda horizontal yoldan bahsedilir ve daha çok küçük ve ergenlik çağındaki çocuklar arasında yaygın bir edinim şeklidir. Düşük endemisiteli bölgelerde horizontal bulaşma, aynı evde yaşayan kişiler ve HBV taşıyıcısı bulunan gündüz bakım merkezleri arasında HBV'nin ikinci en önemli bulaş yolu olarak açıklanır (Knutsson ve Ljunggren, 2000).

Sosyo-ekonomik düzeyin düşük olması, toplu yaşam ve bunun getirdiği aile içi yakın temas, havlu, jilet, makas, cımbız, tarak gibi delici kesici aletlerin ortak kullanılması, kötü hijyen şartları bulaşmayı artırmaktadır (Saveci, 2006).

2.5.2. Risk Grupları

Hepatit B virüsü çok çeşitli yollardan enfekte yeteneğine sahiptir. Bulaşma için çok yol olması da çok fazla risk grubu ortaya çıkarmaktadır. Risk altında olan kişi gruplarını sıralayacak olursak; kan veya kan ürünlerinin transfüzyonuna maruz kalanlar, yasa dışı enjeksiyon ilaç kullanan kişiler, dövme yaptıranlar, akupunktur yaptıranlar, sağlık personeli, enfekte olmuş maddelere temas etmek zorunda kalanlar, birden fazla kişiyle cinsel ilişkiye giren heteroseksüel ve homoseksüeller, hayat kadınları, cinsel yolla geçen hastalık hikayesi bulunanlar, hapisane, bakımevi gibi toplu ve hijyenik olmayan şartlarda yaşayanlar, HBV taşıyıcı annelerin çocukları, kulak deldirenler, ailesinde HBV taşıyıcı olan kişiler, HBsAg pozitif kişilerle cinsel ilişkiye girenler örnek olarak verilebilir (Alter, 2003; Hou ve diğ., 2005; Alexander ve diğ.,1999; Batayneh ve Bdour, 2002; Knutsson ve Ljunggren, 2000).

Tablo 2.5.2.1. HBV enfeksiyonu bulaşma yolları ve bulaşma yollarına göre risk grupları (Şen , 2009).

1. Perkütan (Parenteral) bulaşma
<ul style="list-style-type: none"> • Çoğul transfüzyon yapılan hastalar • Hemodiyaliz hastaları • Damar içi uyuşturucu bağımlıları • Dövme yaptıranlar • Sağlık personeli • Cerrahlar • Diş hekimleri • Hemşireler • Hasta bakıcılar • Laboratuvar teknisyenleri • İlk yardım çalışanları
2. Cinsel temasla bulaşma
<ul style="list-style-type: none"> • Erkek eşcinseller • HBV taşıyıcılarının cinsel partnerleri • Hayat kadınları • Çok partnerli heteroseksüeller
3. Perinatal bulaşma
<ul style="list-style-type: none"> • HBV taşıyıcı annelerin bebekleri
4. Horizontal bulaşma
<ul style="list-style-type: none"> • Kalabalık topluluklar halinde kötü hijyen ve düşük sosyo-ekonomik durumda yaşayanlar • Mental özürlüler

2.5.3. Korunma

Hepatit B enfeksiyonunun önlenmesi için üç ana yol mevcuttur. Birincisi hastalık bulaşmasını önlemek için davranış değişikliği, ikincisi pasif immünoprofilaksi, üçüncüsü ise aktif bağışıklamadır (Hou,2005; Mahoney 1999).

2.5.3.1. Davranış Değişikliği

Cinsel ilişkisi sırasında alınan önlemlerin değişmesi, cinsel yaşamla ilgili eğitimler, damar içi uyuşturucu bağımlısı kişilerin rehabilitasyonu ve gerekli eğitimlerin verilmesi, mesleki olarak HBV ile karşılaşmanın önlenmesine yönelik yöntemler ve kan ürünlerinin taranmasındaki yöntemlerin iyileştirilmesi, sterilizasyon ve dezenfeksiyon kurallarına uygun davranılması transfüzyonla ilişkili hepatit riskini azaltmıştır. Gelişmekte olan ülkelerdeki davranış değişikliğinin gelişmiş ülkelere oranla yenidoğanlar açısından daha faydalı olduğu düşünülmektedir. Erken çocukluk çağında enfekte olmak daha olasıdır. Bu iki grup için de hem pasif hem de aktif olan immünoprofilaksi korunma için daha iyi bir yoldur (Hou, 2005).

2.5.3.2. Pasif İmmünoprofilaksi

Hepatit B immünglobülini (HBIG) yüksek titrede anti-HBs içerir ve yüksek konsantrasyonda anti-HBs içeren bireylerin plazmasından elde edilmektedir. Pasif olarak kazanılmış anti-HBs'ler bireyleri HBV enfeksiyonundan koruyabilmektedir. Bunun da nedeni pasif immünizasyona maruz kalan bireylerde yüksek titrede antiHBs (HBIG) içeren spesifik Ig'nin verilmesidir. HBIG, yüksek anti-HBs titreleri içeren serumdan Cohn Oncly fraksiyonasyon prosedürüyle hazırlanır ve 100,000 IU anti-HBs/ml'ye standardize edilir. HBIG, genellikle hepatit B aşısı ile kombinasyon halinde bazı durumlarda etkilidir: (1) HBsAg-pozitif olan anneden doğan bebek için perinatal bulaş (2) HBsAg-pozitif kanın perkütan veya mukozal yüzeye teması (3) HBsAg pozitif bir kişiyle cinsel temas. Erişkinlere yapılacak tüm uygulamalarda 0.06 mL/kg standart dozunda, HBsAg pozitif anneden doğan bebeklere 100.000 IU dozunda kas içi ve tercihen deltoid veya gluteal kasa uygulanması önerilmektedir. Eğer HBV aşısı ile aynı anda uygulanması gereken durumlar olursa farklı

bölgelerden yapılmalıdır. Bu aşı belirlenen standart dozlara göre yapıldığında 3 ile 6 ay arasında koruma sağlamaktadır (Mahoney, 1999; Güçlü ve Geyik, 2012).

2.5.3.3. Aktif Bağışıklama

HbsAg pozitif kişilerin plazmalarından saflaştırılarak ya da gen teknolojisi kullanılarak maya veya memeli hücrelerinden elde edilen güvenli, immünojenik ve etkili hepatit B aşuları, 1981 yılından beri Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılmaktadır. Aşı için önerilen doz kullanılan ürüne, kullanacak kişinin yaşına ve eğer bebekse annesinin HBsAg serolojik durumuna göre değişir. Aşılamaya yapılırken doğar doğmaz, ilk ve altıncı aylarda olmak üzere üç dozluk veya doğar doğmaz, yaşamın ilk ayı, ikinci ayı ve on ikinci ayı olmak üzere dört dozluk şema kullanılmaktadır. Genelde bebekler ve adolesanlar için olan aşı dozları yetişkinlerinkine kıyasla %50-70 daha düşüktür. Çocuklara 10 µg, erişkinlere 20 µg dozlarında aşuların kas içine (deltoid) yapılması önerilmektedir. İlk aşılamadan sonra >10 mIU/ml'lik anti-HBs titreleri geliştiren kişiler, akut ve kronik enfeksiyona karşı neredeyse %100 korunmaktadır. Bu seviye çocuk ve adölesanlarda yaklaşık %90 civarındadır. Yaşın ilerlemesi, sigara kullanımı, obezite, böbrek yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı ve çeşitli immünosupresif hastalıklar serokonversiyon oranını aşağılara çekmektedir. Serokonversiyon erkeklerde kadınlara nazaran daha az görülmektedir. Aşılamadan sonra rutin antikor kontrolü önerilmemektedir. Fakat sağlık çalışanları, kronik hemodiyaliz hastaları ve immünosupresif hastalar gibi gruplarda antikor bakılması önerilmektedir. Bunun da nedeni eğer 10 IU/ml'den daha az antikor titreleri tespit edilirse koruyuculuk sağlanamadığı için ikinci üç dozluk aşı yapılması önerilmektedir. Bu ikinci aşılamaya ile %44 ile %100 arasında değişen oranda koruyuculuk sağlanabilir (Mahoney, 1999; Güçlü ve Geyik, 2012; WHO, 2009).

Rutin yenidoğan Hepatit B bağışıklamasının, kronik HBV enfeksiyonunun prevalansını önemli ölçüde azaltmış olması veya ortadan kaldırmadaki başarısı çeşitli ülkelerde ve ortamlarda gösterilmiştir. Ancak bunun yanında Hepatit B aşılması için zayıf dağıtım altyapısı, düşük kapsamlı olması ve finansal açıdan eksikliklerin olması, evrensel çocukluk bağışıklığı hedefine ulaşmak için zorluklar yaratmaktadır.

Bu nedenle, dünya çapında Hepatit B aşılara erişimi arttırmayı kolaylaştırmak için, ülkelerde bağışıklama programlarının sürekli maddi olarak desteklenmesi gerekmektedir (Hou, 2005).

Tablo 2.5.3.1. Hepatit B aşısı önerilen kişiler ve gruplar (Ayşe Şen,2009).

➤ Sağlık personeli
➤ Bazı hasta grupları ve bunlarla ilişkisi olanlar; <ul style="list-style-type: none"> ○ Hematoloji/Onkoloji ve hemodiyaliz ünitesi hastaları ve çalışanları ○ Sık ve/veya masif kan transfüzyonu ve pıhtılaşma faktörü alması gereken hastalar (hemofili, talasemi vb.) ○ Mental retarde kişiler ve izlendikleri ünitelerde çalışanlar ve persistan antijenemisi olan kişilerin izlendiği ünitelerde çalışanlar veya aynı evde oturanlar
➤ Yüksek hastalık insidansı olan toplumlar ve Alaska Eskimoları,Haitili ve Hintli göçmenler
➤ HBsAg pozitif anneden doğan bebekler
➤ Askeri personel
➤ Kan bankası çalışanları
➤ Seksüel yaşantıları nedeniyle yüksek risk taşıyanlar
➤ İntravenöz ilaç kullananlar
➤ Mahkumlar

Bu liste bir çok grubu kapsamakla beraber aşılama ile korunabilir bir hastalık olan hepatit B için her kişinin aşılanmış olması ideal bir davranış şeklidir.

2.5.4. Klinik Tablo

HBV enfeksiyonunun klinik belirtilerinin spektrumu akut ve kronik hastalığa göre değişim gösterir. Hepatit B'nin akut fazında, belirtiler subklinik veya anikterik (ikterik olmayan) hepatit ile ikterik hepatit ve bazı durumlarda fulminan hepatit gibi değişiklikler gösterir. Kronik faz esnasında ise belirtiler asemptomatik bir taşıyıcı durumundan kronik hepatit, siroz veya hepatosellüler karsinoma gibi ciddi klinik tablolara kadar uzanabilir (Mauss ve diğ., 2017).

2.5.4.1. Akut Hepatit B

HBV enfeksiyonu sonrasında, kuluçka dönemi 1 ile 4 dört ay arasında değişkenlik gösterir. Akut hepatit gelişmeden önce bir prodromal faz meydana gelebilir. Bu dönemde serum hastalığına benzer bir sendrom gelişebilir ve bu sendrom kendini ateş, deri döküntüsü, artralji, artrit gibi belirtilerle gösterir ve genellikle hepatitin başlamasıyla birlikte sona erer. Hastaların en az %70'inde subklinik veya ikterik olmayan hepatit görülürken, %30'un altında ikterik hepatit gelişir. Sağ üst kadranda rahatsızlığı, bulantı, sarılık ve diğer spesifik olmayan semptomlar hepatitin en belirgin klinik semptomlarıdır. Diğer hepatit virüsleri ile veya kişide bulunan ve kendini belli etmemiş bir karaciğer hastalığı ile birlikte enfeksiyon oluşması durumunda, klinik seyri daha şiddetli bir hal alabilir. Akut fazda genellikle sarılık dahil olmak üzere bütün semptomlar 1 ile 3 ay arasında değişen bir süre içerisinde ortadan kaybolur. Ancak bazı hastalar uzun süreli yorgunluğa sahip olurlar. Akut faz esnasında, alanin ve aspartat aminotransferaz seviyeleri (ALT ve AST) 1000–2000 IU/L'ye yükselebilir. ALT tipik olarak AST'den daha yüksektir. Akut faz esnasında bilirubin seviyeleri, hastaların önemli bir kısmında normal olabilir. İyileşmekte olan hastalarda ise genellikle serum aminotransferazların normal hale dönmesi 1 ile 4 ay içinde gerçekleşir. Eğer ALT'nin yükselmesi devam ediyorsa ve 6 aydan fazla bir süre geçmişse kronik hepatit B'den söz edilir. Akut fazdan kronik faza geçiş oranı öncelikle enfeksiyonun yaşına göre belirlenir (Ganem, 2004; McMahon 1985).

Erişkin kişilerde kazanılmış enfeksiyonda %5 veya daha az oranlarda kronikleşme gözlenirken daha genç yaşlarda kazanılan enfeksiyon durumlarında

kronikleşme daha yüksek oranlardadır. Anneden bebeğe bulaş şeklinde (ilk altı ay içinde) kazanılmış enfeksiyonların yaklaşık olarak %90'ı kronikleşir. Altı aydan sonra beş yıla kadar kazanılmış enfeksiyonlarda ise bu oran %20-60'lara kadar düşer (Caredda, 1989; Smedile 1982).

Fülminan hepatit, hepatit B enfeksiyonuna bağlı olan akut karaciğer yetmezliğidir ve nadir olarak görülür (%0.1-0.5). Fülminan hepatitinin nedenleri ve risk faktörlerinin pek anlaşılabilmesiyle birlikte, enfekte hepatositlerin lizisine bağlı olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda fülminan Hepatit B akut Hepatit B enfeksiyonuna kronik Hepatit B'nin reaktivasyonuna ve Hepatit D virüsünün süperenfeksiyonuna bağlı olarak gelişebilir (Aydın, 2013; Garfein 2004).

2.5.4.2. Kronik Hepatit B

Daha önce de bahsedildiği üzere erişkinlerde kazanılmış enfeksiyonda HBV'nin kronikleşme oranı %5 veya daha düşüktür. Perinatal kazanılmış enfeksiyon durumunda ise kronikleşme oranı yaklaşık olarak %90'dır. Yaşamın birinci yılı ile beşinci yılı arasında kazanılan enfeksiyonlarda ise kronikleşme oranı %20-50 arasında değişmektedir. Çoğu hastada akut hepatit hikayesi bulunmamaktadır (Ganem, 2004; McMahon 1985).

Bazı kronik Hepatit B virüsü hastaları tüm hayatları boyunca virüsü taşımalarına rağmen hiçbir karaciğer sorunu yaşamazken bazı hastalarda çok kısa süre içerisinde karaciğer yetmezliği gibi ciddi klinik tablolar meydana gelebilir. Kronik Hepatit B enfeksiyonu immün tolerans, immünoaktif, nonreplikatif dönem ve alevlenme olmak üzere dört şekilde ortaya çıkabilmektedir. İmmüntolerans dönemi asemptomatik bir dönemdir ve HBV DNA düzeyi oldukça yüksektir. HBV DNA düzeyinin azaldığı dönem olan immünoaktif dönemde ise hastalarda belirsiz şikayetler olabilir. Nonreplikatif dönem ise latent dönemdir ve HBV DNA düzeyi oldukça azalmıştır. Bu dönemde bazı hastalarda hastalığın şiddeti azalmaktadır fakat bazen de hastalığın yeniden aktif formlara geçmesi mümkündür (Özdemir, 2004; Sonsuz, 2007).

2.5.5. Tanı

Akut hepatit esnasında klinik bulgulara bakarak tanı koymak mümkündür. Bu da kendi içerisinde belirli dönemlere ayrılır. 30 -150 gün arasında süren kuluçka dönemini takiben preikterik dönem görülür. Bu dönemde sarılık görülmeyen belirtiler ortaya çıkar. Halsizlik, bulantı, iştahsızlık, düşük ateş, kas ağrısı, kusma, yorgunluk bu belirtiler arasında sayılabilir. Preikterik dönemi takiben ikterik dönem görülür. Bu dönemde sarılık göz aklarından başlayarak vücuda yayılır ve bunu takiben idrar renginde koyulaşma, dışkı renginde açılma görülür. İyileşme döneminde ise tüm ortaya çıkan semptomlar gittikçe azalmaya başlar. Ayrıca ikter ne kadar fazla ise iyileşme süresi o kadar uzundur şeklinde benimsenmiş bir kural vardır (Güçlü ve Geyik, 2012; Tabak, 2007).

Kişide serum ALT düzeyinin 1000 – 2000 mg/dl arasında olması tipiktir ve ALT, AST'den daha fazla yükselir. Hastalığın ikterik dönemine girmiş bir hastada ise bilirübin düzeyi yükselir. Hastalığın kronikleşmeye başladığı durumlarda ise ALT ve AST seviyelerinde ılımlı bir artış görülmeye başlar. Fakat nadir olarak da bu değerler normal olarak tespit edilir. ALT ve AST testleri, aynı zamanda bilirübin testleri yaparak hastalığın tanısının koyulması mümkündür (Güçlü ve Geyik, 2012).

Hepatit B virüsüne ait antijenlerin ve antikorların serumda saptanması ise enfeksiyonun özgül tanısında kullanılan yöntemlerdir. Virüse ait HBsAg ve HbeAg antijenleri ile bu antijenlere karşı vücudun geliştirdiği antikorları (anti-HBc IgM, total anti-HBc, antiHBs ve antiHBe) saptamak EIA (enzyme immunoassay) ve RIA (radio immunoassay) yöntemleriyle mümkündür. Ayrıca kandaki HBV DNA düzeyine bakılarak ve karaciğer biyopsisi ile de tanı koymak mümkündür (Aşkar, 2006; Hollinger F.B., 2010; Güçlü ve Geyik, 2012).

2.5.5.1. HBsAg (Hepatit B Yüzey Antijeni)

HBsAg varlığı akut enfeksiyonda semptomların görülmesinden 3-5 hafta önce kanda saptanabilir. Hastalığın akut veya kronik mi olduğu hakkında bilgi vermez ve akut hastalığın iyileşmesi durumunda 4-6 ay içerisinde kaybolur. Fakat HBsAg'nin akut enfeksiyonda 6 aydan fazla kalması, enfeksiyonun kronikleştiğini gösterir. Aşılama yapıldıktan sonra çocuklarda geçici HBsAg pozitifliği saptanması mümkündür (Aşkar, 2006).

2.5.5.2. HBeAG ve AntiHBe (Hepatit B e Antijeni ve Hepatit B e Antikoru)

HBeAg'nin kronik HBV enfeksiyonunun başlangıç fazı sırasında mevcut olduğu ve serumda HBV DNA polimeraz aktivitesi ve HBV DNA'sının saptanması ile varlığının korunduğu gözlenmiştir. Kanda Anti HBe varlığı ise viral replikasyonun azalması ve hastalığın azaldığını gösterir (Yim ve Lok, 2006).

2.5.5.3. Anti HBc IgM (HBc Antijenine Karşı IgM Antikoru)

Akut enfeksiyon sırasında baskın olan anti-HBc IgM'dir ve bazı durumlarda pozitif saptanması akut Hepatit B tanısı için yeterlidir. 3 ile 12 ay arasında bir süre içinde serumdan kaybolur. Ayrıca bazı hastalarda anti-HBc IgM titresi kronik hepatit B'nin alevlenmeleri sırasında saptanabilir seviyelere yükselebilir (Maruyama, 1994).

2.5.5.4. AntiHBc IgG ve Total Anti-HBc (HBc Antijenine Karşı IgG Antikoru ve Total Hepatit B Antikoru)

Serumda AntiHBc IgG pozitifliği, antiHBc IgM'den sonra görülür ve saptanması kişinin HBV enfeksiyonu ile hayatının herhangi bir döneminde karşılaştığını gösterir. Çok önceden geçirilmiş ve anti-HBs saptanamadığında da anti-HBc IgG tek başına pozitif olarak saptanır (Aşkar, 2006).

2.5.5.5. Anti HBs (Hepatit B Yüzey Antikoru)

Anti HBs varlığı akut enfeksiyondan sonra hastalığın iyileştiğini ve bağışıklık kazanıldığını gösterir. Oluşan anti-HBs, anti-HBc ile genellikle ömür boyu saptanabilir düzeyde kalır (Aşkar, 2006).

2.5.5.6. HBV DNA

HBV bir DNA virüsüdür ve HBV DNA viral replikasyonun en güvenilir göstergesidir. Akut Hepatit B'nin iyileşmesi genellikle HBV DNA'nın serumda kaybolması ile birlikte görülür. HBV DNA varlığı PCR (Polimerase Chain Reaction) yöntemiyle etkili bir şekilde saptanabilir (Mauss ve diğ., 2017; Tabak, 2007).

2.5.6. Dünya'da Hepatit B Virüsü

HBV enfeksiyonunun sıklığı ve HBV bulaşma yolları dünyanın farklı bölgelerinde belirgin olarak farklılık göstermektedir. Bu farklılıklardan dolayı dünya yüksek , orta ve düşük endemisite bölgeleri olarak ayrılmıştır. Dünya nüfusunun yaklaşık % 45'i yüksek endemisiteli bölgelerde , % 43'ü orta endemisiteli bölgelerde, % 12'si ise düşük endemisiteli bölgelerde yaşamaktadır (Mahoney, 1999).

Düşük endemisiteli bölgeler arasında Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Batı Avrupa, Avustralya, Yeni Zelanda gibi ülkeler bulunur ve daha çok korunmasız cinsel temas veya enjeksiyon iğnelerinin paylaşılması gibi riskli davranışlar yoluyla enfeksiyonu alan genç yetişkinlerde görülür (Liaw ve diğ., 2010). Bu bölgelerde HBsAg taşıyıcılığı %1'in altındadır ve enfeksiyon riski %20 civarındadır. Vakaların çoğunluğu 15-29 yaşlar arasındaki kişilerde görülür. Erişkinler bakımından enfeksiyonla karşılaşma oranı %20'yi aşmamaktadır. Genel olarak popülasyona bakıldığında hastalığın görülme sıklığı düşüktür fakat, homoseksüel kişiler, birden fazla partneri olan heteroseksüeller ve damar içi uyuşturucu bağımlıları gibi yüksek riskli gruplarda ve bazı etnik gruplarda (siyah ırk, Eskimolar, Yeni Zelanda Maorileri, Avustralya yerlileri gibi) enfeksiyon endemiktir (Mahoney, 1999; Şen, 2009).

Orta endemisiteli bölgeler arasında Türkiye dahil Ortadoğu, Güney ve Doğu Avrupa, Güney ve Orta Amerika, Orta Asya ülkeleri ve Japonya bulunur. Bu bölgelerde HBV enfeksiyonu genellikle erken çocukluk döneminde, çoğunlukla ana-baba ya da açık olmayan parenteral mekanizma yoluyla hanehalkı teması yoluyla yani horizontal yolla bulaşır (Liaw ve diğ., 2010). HBsAg taşıyıcılığı %2-7 arasında değişmektedir. Enfeksiyon riski ise %20 ile %60 arasında değişmektedir (Mahoney, 1999; Şen, 2009).

Yüksek endemisiteli bölgeler arasında Asya'nın çoğu (Japonya ve Hindistan hariç), Orta Doğu, Güney Amerika Amazon Havzası, çoğu Pasifik Ada Grubu, Afrika ve Yeni Zelanda'da Yerli Alaskalar, Avustralyalı Aborjinler ve Maoriler gibi diğer özel popülasyonları içeren bölgeler bulunmaktadır. Yüksek prevalanslı bölgelerde, HBV enfeksiyonu genellikle perinatal olarak veya bebeklik ve erken çocukluk döneminde ortaya çıkar. Bu bölgelerde HbsAg pozitifliği %7-20 civarındadır (Liaw ve diğ., 2010; Mahoney, 1999; Şen, 2009).

2.6. Tedavi

Akut Hepatit B enfeksiyonu için herhangi bir özel tedavi şekli bulunmamaktadır. Kusma ve ishal yoluyla kaybedilen sıvıyı dengelemek ve dengeli beslenerek hastanın daha rahat bir hastalık süreci geçirmesi hedeflenir. Kronik Hepatit B enfeksiyonunun tedavisinde ise antiviral ilaçlar kullanılmaktadır. Buna rağmen kronik HBV enfeksiyonu durumunda tam iyileşme, Hepatit B virüsünün eradikasyonu ve HBsAg serokonversiyonu çok az rastlanan durumlardır. Kronik Hepatit B tedavisinde esas amaç, hastalığın ilerlemesiyle birlikte oluşabilecek hepatoselüler karsinom, siroz ve karaciğer yetmezliği gibi ciddi komplikasyonların önlenerek hastanın yaşam kalitesini ve yaşam süresini artırmaktır (Akhan ve diğ.,2014; Dursun ve Albayrak, 2016; Lozano ve diğ., 2012).

Günümüzde bu hedeflere ulaşmak amacıyla Hepatit B tedavisinde onaylanmış tedavi yöntemlerini ikiye ayırmak mümkündür. Birincisi pegile interferon, ikincisi nükleozid/nükleotid analoglarıdır. İnterferon tedavisinde PEG-IFN alfa 2a ve PEG-IFN alfa 2b kullanılmaktadır. Nükleozid/nükleotid

analogları, bu grupta yer alan ilaçlar arasında lamivudin, adefovir, entekavir, telbivudin ve tenofovir vardır. Bunlar arasında günümüzde en çok kullanılan ve önerilen ikisi entekavir ve tenofovirdir (Dursun ve Albayrak, 2016; Sayan ve diğ., 2010).

HBsAg pozitif, HBeAg pozitif veya negatif, HBV DNA >2.000 IU/mL, ALT düzeyi artmış ve karaciğer biyopsisinde orta veya ileri derecede nekro-inflamasyon ve/veya fibrozisi olan kronik Hepatit B hastalarına antiviral tedavi verilmesi önerilir. Ancak siroz gelişen hastalarda HBsAg pozitifliğinin yanında HBV DNA'nın saptanabilir düzeyde olması tedaviye başlanması için yeterlidir. Bu iki tedavi yöntemi birbiriyle kıyaslanacak olursa her birinin avantaj ve dezavantajlarını sıralamak mümkündür. İnterferon grubu ilaçlarda tedavide; tedavi süresinin belirli olması (genellikle 1 yıl), bu tedavi grubunun avantajlarını oluştururken, yan etkilerinin çok sık görülmesi, enjeksiyon yoluyla kullanılması, dekompanse sirozlu hastalarda, hamilelerde ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde kullanılamaması bu yöntemin dezavantajlarını oluşturmaktadır. Nükleozit/nükleotid analoglarında ise ağız yoluyla kullanılmaları, daha az yan etkisinin olması ve dekompanse sirozlu hastalarda bile rahatlıkla kullanılabilmesi gibi avantajların yanında, belirsiz tedavi süresi ve düşük oranda da direnç gelişimi olasılığı bu yöntemin dezavantajlarını oluşturmaktadır (Bıyık ve Asıl, 2017; Dursun ve Albayrak, 2016; Yamazhan, 2011).

2.7. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Geçmişte bir enfeksiyöz hastalığı saptamak için vücudun enfekte bir bölgesinden örnek alınır ve klasik mikrobiyolojik yöntemlerle tanı konulurdu. Klasik mikrobiyolojik yöntemlerin geliştirilmesiyle birlikte çok sayıda bakteri, viral ve fungal maddenin güvenilir bir şekilde tespit edilmesi mümkün olmuştur. Fakat buna rağmen bazı enfeksiyon yaratan hastalıklar için kullanılan standart kültür teknikleri etiyolojik bir ajanın tespitinde yetersiz kalmaktadır. Örneğin, hepatitin çeşitli yollardan bulaşabileceği bulunurken, enfeksiyöz olduğu bilinen örneklerin doku kültürü çalışmaları başarılı bir sonuç vermemiştir. Ayrıca yetiştirme teknikleriyle teşhis yapmak önemli bir zaman almaktaydı. Birçok viral ve fungal ajandan

kaynaklanan akut hastalık durumunda kültüre dayanan teşhis yeterli çabukluğu sağlayamamaktaydı. Bu eksikliklerden dolayı, enfeksiyöz ajanların tespiti için yeni araçlarının geliştirilmesine büyük bir ilgi duyulmaktaydı. Viral ajanları tespit etmenin bir yöntemi, immün elektron mikroskopisidir. Hepatit A ve B, diare, rotavirüs ve Norwalk virüsüne neden olan iki ajan ilk önce elektron mikroskopisi tekniğiyle araştırılmış ve bu ajanların temel epidemiyolojisini ilk olarak bu şekilde aydınlatılmıştır. Elektron mikroskopu, viral enfeksiyonların anlaşılmasında önemli bir ilerlemeyi temsil etmekteydi fakat gelişmiş teknoloji ve virüsleri daha açık şekilde yorumlama ihtiyacı, bu tekniğin genel yararlılığını sınırlamıştır. Bu nedenle kültürü yapılamayan antijenleri tespit edip tanımlayabilmek için yeni teknikler geliştirildi. Yeni teknikler geliştirilirken hepatit A ve B antijenlerinin saptanması için en yaygın yöntem radyoimmünoassay (RIA) olmuştur. RIA yöntemi, duyarlı ve objektif sonuçlar vermesi ve çok sayıda numunenin tek seferde test edilebilmesinden dolayı başarılı bir yöntem olmuştur (Yolken, 1980; Voller ve diğ., 1978).

Bunun yanında, bir izotop bağlı immünoreaktif tarafından gama radyasyonu emisyonuna dayanan radyoimmünoassay (RIA) yönteminin bir takım dezavantajları vardır. Örneğin, radyoaktif izotopların doğal bir bozulma oranına sahip olması, radyo-etiketli reaktiflerin aktivitelerini zamanla kaybedecekleri anlamına gelir. Bu sebepten dolayı tekrar tekrar etiketleme, yeniden test etme ve yeniden standartlaştırma yapılması gereklidir. Ayrıca RIA sistemi, kullanıcıları potansiyel radyasyon tehlikesine maruz bırakmaktadır. Radyasyonu ölçmek için pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulması RIA yönteminin kullanımını sadece merkez laboratuvarlarla sınırlı bırakmıştır. Bu dezavantajlardan dolayı RIA'nın sağladığı avantajları koruyacak fakat bazı doğal problemlerinden arındırılmış bir sisteme ihtiyaç duyuldu. RIA'da kullanılan radyoizotopun bir enzim ile değiştirilmesiyle EIA/ELISA yaratıldı (Voller ve diğ., 1978; Yolken, 1980; Gan ve Patel, 2013).

2.7.1. Genel Çalışma Prensipleri

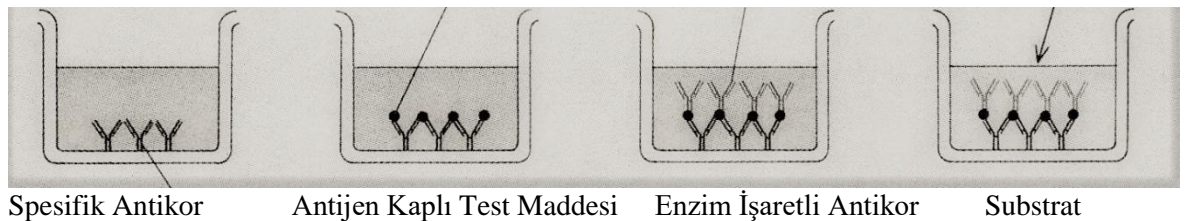
EIA/ELISA spesifik antikoruna bir antijen bağlanmasının temel immünoloji konseptini kullanır. Bu da sıvı bir numune içerisinde proteinler, peptitler, hormonlar veya antikor gibi çok küçük miktardaki antijenlerin saptanmasına olanak sağlar.

Akışkan fazdaki antijen, genellikle 96 oyuklu mikrotitre kuyularına yerleştirilir ve immobilize edilir. Daha sonra antijenin, ikincil bir enzim-bağlı antikor ile daha sonra saptanan spesifik bir antikora bağlanması sağlanır. Enzim için bir kromojenik substrat, görünür bir renk değişimi veya antijenin varlığını belirten bir floresan verir. Kantitatif veya nitel ölçümler bu kolorimetrik okumaya dayanarak değerlendirilebilir. ELISA testlerindeki anahtar aşama, antijenin ve spesifik antikorun kuyu yüzeyine doğrudan yapışması ya da hareketsizleştirilmesiyle antijenin saptanmasıdır. Hassas ölçümler için antijen, bir "yakalama" antikoru yoluyla karışık antijenlerin arasından spesifik olarak seçilebilir (Yolken, 1980; Gan ve Patel, 2013).

2.7.2. ELISA'nın Tipleri

2.7.2.1. Direkt ELISA

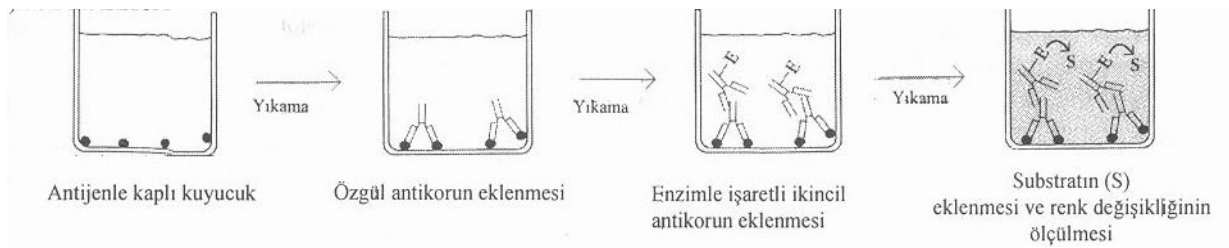
Direkt ELISA diğer ELISA tekniklerine göre daha az basamak içerir ve daha hızlıdır. Bu yöntemin aynı zamanda daha az reaktif ve daha az basamak içermesinden dolayı, yani ikincil antikor ihtiyacı olmamasından dolayı daha az hata olasılığı vardır. Bu yöntemde yüksek molekül ağırlıklı antijenin miktarı tayin edilebilir. Numune içinde bulunan antijenler nonspesifik olarak mikrotitre kabının kuyu yüzeyine bağlanır ve işaretli antikor kuyucuklara eklendikten sonra belirli süreler boyunca inkübasyon yapılır. Bağlanmamış işaretli antikorlar yıkamayla birlikte ortamdan uzaklaştırılır. Kuyulardaki bağlanmış enzim işaretli antikor miktarı, ortama enzimin substratının eklenmesi ile oluşan renk değişimi sayesinde belirlenir (Yolken, 1979).



Resim 2.7.2.1. Direkt ELISA metodu (Yolken RH. 1980).

2.7.2.2. İndirekt ELISA

İstenilen antijenin analiz edilebilmesi için gereken bir örnek önce bir mikrotitre levhanın kuyucuklarına yapıştırılır. Daha sonra antijenle kaplanmamış olan kuyucukların herhangi bir alanını bloke etmek için sığır serum albümini gibi bir reaksiyona girmeyen protein solüsyonu eklenir. Bu işlemin ardından spesifik olarak antijene bağlanan birincil antikor eklenir. Daha sonra bir enzim-konjuge sekonder antikor eklenir. Birincil antikorum renk değişimi yoluyla nicelleştirilebilmesi için bir substrat eklenir. Serumda bakıldığında rengin yoğun olarak görülmesi, birincil antikor konsantrasyonundan kaynaklanmaktadır. Test antijeni olarak serum kullanıldığında, numunedeki tüm proteinlerin mikrotitre plakasının kuyularına yapışması indirekt ELISA yönteminin tek dezavantajıdır (Voller ve diğ., 1978; Gan ve Patel, 2013).



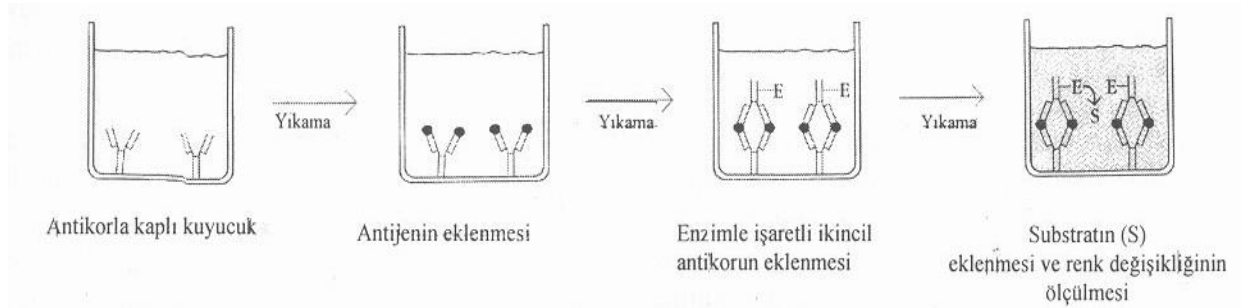
Resim 2.7.2.2. İndirekt ELISA metodu (Çırak, 1999).

2.7.2.3. Sandviç ELISA

İndirekt ELISA metodundaki dezavantaj; serumdan seçilmesi için spesifik test antijenine özgü bir yakalama antikoru kullanılarak aşılabılır. Bu metod, spesifik bir örnek antijeni tanımlamak için kullanılır. Yani burada oluşan renk değişimi antijen varlığını gösterir. Kuyu yüzeyi, istenen antijeni yakalamak için belirli bir miktarda bağlanmış antikor ile hazırlanır. Spesifik olmayan bağlanma bölgeleri sığır serum albümini kullanılarak bloke edilir ve sonra antijen içeren numune plakaya uygulanır. Ardından antijeni araya sıkıştıran spesifik bir birincil antikor eklenir. Birincil antikora bağlanan enzim bağlantılı sekonder antikorlar uygulanır. Bağlanmamış antikor-enzim konjugatları yıkandıktan sonra substrat eklenir ve daha sonra nicelenebilecek bir renge enzimatik olarak dönüştürülür.

Bu yöntemde kullanılan antijeni yakalamak için saflaştırılmış bir spesifik antikorum kullanılması tekniği, antijenin diğer antijenlerin karışımından arındırılması

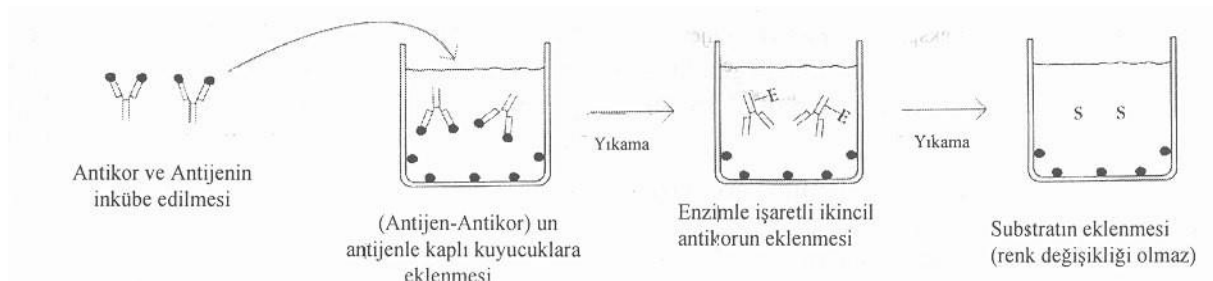
ihtiyacını ortadan kaldırıp, analizi basitleştirmesi ve özgülüğü ile duyarlılığını artırması gibi avantaj sağlar (Yolken, 1980; Gan ve Patel, 2013; Çırak, 1999).



Resim 2.7.2.3. Sandviç ELISA metodu (Çırak, 1999).

2.7.2.4. Kompetitif ELISA

Bu metoddaki temel olay, birincil antijenle bir mikrotitre plakanın kuyularına bağlanan örnek antijeni ve antikor arasındaki rekabetçi reaksiyon sürecidir. İlk olarak, birincil antikor inkübe edilir. Daha sonra örnek antijen ve sonuçta oluşan antikor-antijen kompleksleri, aynı antijen ile kaplanmış olan kuyucuklara eklenir. İnkübasyon periyodundan sonra, bağlanmamış antikorlar yıkanır. Daha fazla birincil antikor, örnek antijene bağlanır. Bundan dolayı da kuyucukta kaplanan antijene bağlanmak için daha az miktarda birincil antikor bulunacaktır. Ardından enzime konjuge edilmiş ikincil antikor eklenir ve kromojenik veya floresan sinyali ortaya çıkarmak için bir substrat eklenir. Renk yokluğu ise örnekteki antijen varlığını işaret eder. Tespit edici antikor az miktarda bile olsa kompleks antijen karışımlarındaki farklılıklara olan yüksek duyarlılığı kompetitif ELISA'nın başlıca avantajıdır (Gan ve Patel, 2013; Çırak 1999).



Resim 2.7.2.4. Kompetitif ELISA metodu (Çırak, 1999).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Numuneler

Ocak 2016-2018 tarihleri arasında Yakın Doğu Üniversitesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na başvuran ve HBsAg pozitif tanı konulan hastaların serum örnekleri çalışmaya alınmıştır. Hastaların HBsAg testleri S/CO birimi ile çalışılmakta, S/CO <1.0 ise nonreaktif; S/CO değeri ≥ 1.0 ise reaktif olarak rapor edilmektedir. Pozitif sonuç alınan olguların kan serumu numuneleri, Yakın Doğu Üniversitesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında -20 derecedeki buzluklarda stoklanmaktadır.

3.2. Kitler

ABBOTT ARCHITECT HBsAg tetkiki, HBsAg tespiti amacıyla kullanılan, monoklonal anti-HBs kaplı mikropartikülleri kullanan bir kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkikidir (CMIA). HBsAg tetkikleri, Hepatit B viral (HBV) enfeksiyonu şüphesi durumunda teşhise yardımcı olarak ve enfekte olmuş bireylerin durumunu, yani enfeksiyonun iyileşip iyileşmediği ya da hastanın kronik taşıyıcı haline gelip gelmediğini takip etmek için rutin olarak kullanılmaktadır (Perrillo ve Aach, 1981).

HBsAg'nin kalitatif tetkiki için insan serumu ve plazmasında bulunan Hepatit B antijeninin belirlenmesi CMIA teknolojisi ile Chemiflex olarak adlandırılan esnek tetkik protokoller içeren tek adımlı bir immünolojik tetkikle gerçekleştirilmektedir. Numune, anti-HBs kaplı paramanyetik mikropartiküller ve anti-HBs akridinium etiketli konjugat bir reaksiyon karışımı oluşturmak için birleştirilir. Numunede mevcut HBsAg, anti-HBs kaplı mikropartiküllere ve anti-HBs akridinium etiketli konjugata tutunur. Yıkamadan sonra, reaksiyon karışımına yardımcı yıkama tampon eklenir. Diğer bir yıkama dönüşümünden sonra pre-trigger ve trigger solüsyonları reaksiyon karışımına ilave edilir. Elde edilen kemilüminesan reaksiyon relatif ışık üniteleri (RLU'lar) olarak ölçülür. Örnekteki HBsAg miktarı ve ARCHITECT iSystem optik sistemleri ile tespit edilen RLU'lar arasında doğrudan bir ilişki

bulunmaktadır. Çalışmaya alınan örnekteki HBsAg varlığı ya da yokluğu reaksiyondaki kemilüminesan sinyalinin bir aktif kalibrasyondan elde edilen cutoff sinyaliyle karşılaştırılmasıyla tespit edilir. Örnekteki kemilüminesan sinyal, cutoff sinyalinden büyük ya da eşit ise, yani üretici firmanın prospektüs önerisine göre ≥ 1.00 S/CO ise numune HBsAg için reaktif kabul edilmektedir.

ARCHITECT HBsAg tetkiki insan serumu ve plazmasında HBsAg'nin kantitatif tayini amaçlı Chemiflex adı verilen esnek tetkik protokolleriyle kemilüminesan mikropartikül immünolojik tetkikini (CMIA) kullanan iki adımlı bir immünolojik tetkiktir. İlk olarak numune ve anti-HBs kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilir. Daha sonra ise numunede bulunan HBsAg, anti-HBs kaplı mikropartiküllere bağlanır. İkinci olarak yıkama yapıldıktan sonra, anti-HBs akridinyum işaretli konjugat eklenerek, bir reaksiyon karışımı elde edilir. Daha sonra bir yıkama daha yapılır ve bunun ardından, reaksiyon karışımına pre-trigger ve trigger çözeltileri ilave edilir. Son olarak ise ortaya çıkan kemilüminesan reaksiyon bağlı ışık birimleri (RLU'lar- relative light units) olarak ölçülür. Numunedeki HBsAg miktarı ile ARCHITECT iSystem optik sistemi tarafından saptanan RLU'lar arasında doğrudan bir ilişki vardır. Numunedeki hepatit B yüzey antijeni konsantrasyonu önceden oluşturulmuş bir ARCHITECT HBsAg kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlenir. Çıkan sonuç üretici firmanın prospektüs önerisine göre ≥ 0.05 IU/mL ise numune HBsAg için reaktif kabul edilir

3.3. Cihazlar

Kalitativ sonuçlarını bildiğimiz HBsAg pozitif olan numuneler ABBOTT ARCHITECT i2000SR cihazında prospektüse uygun olarak çalışıldı ve IU/ml cinsinden kantitatif sonuçları elde edilmiştir.

ARCHITECT i2000SR immunoassay cihazı ihtiyaç duyulduğunda sonuçları STAT olarak sunarak laboratuvarınızın yüksek standartlarını karşılar. ARCHITECT i2000SR cihazına dahil edilen esnek protokoller, laboratuvardaki iş akışını geliştirir ve sonuçların güvenle raporlanmasını sağlar. ARCHITECT i2000SR immunoassay analizörü, saatte 200 test çalışılmasına olanak verir ve maksimum verim sağlar. 35 öncelikli ve 100 rutin alana sahip olan bu cihazın 135 örnek yükleme kapasitesi

vardır. Aynı zamanda ARCHITECT i2000SR, 25 adet soğutucu reaktif pozisyonuna sahiptir ve sadece in vitro tanıda kullanılan bir cihazdır (Abbott Core Laboratory, 2018).

3.4. İstatistik

Elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 15.0 isimli istatistik programı aracılığıyla analiz edilmiştir. Korelasyon analizi Spearman Korelasyon Testi ile regresyon analizi ise ANOVA testi ile analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan ve önceden S/CO değerleri bilinen 75 numuneden 56'sı erkek 19'u ise kadındı. Olguların cinsiyete göre gruplandırılmış hali Tablo 4.1.'de verilmektedir.

Tablo 4.1. Olguların cinsiyete göre gruplandırılmış hali

	Sıklık	Yüzdelik	Geçerli Yüzdelik	Kumulatif Yüzdelik
ERKEK	56	74,7	74,7	74,7
KADIN	19	25,3	25,3	100,0
Toplam	75	100,0	100,0	

HBsAg kalitatif değerlendirilmesi yapılan olgular ülkelere göre incelendiğinde 18/75 (%24) Nijerya, 15/75 Türkiye (%20), 6/75 (%8) Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, 6/75 (%8) Pakistan, 5/75 (%6.7) Türkmenistan, 4/75 (%5.3) Suriye, 3/75 (%4) Ermenistan, 2/75 (%2.7) Kırgızistan, 2/75 (%2.7) Vietnam, 2/75 (%2.7) Özbekistan, 2/75 (%2.7) Kamerun, 1/75 (%1.3) Ukrayna, 1/75 (%1.3) Azerbaycan, 1/75 (%1.3) Bangladeş, 1/75 (%1.3) Sırbistan, 1/75 (%1.3) Rusya, 1/75(%1.3) İngiltere, 1/75 (%1.3) Zimbabve, 1/75 (%1.3) Kongo, 1/75 (%1.3) Kazakistan ve 1/75 (%1.3) Kenya vatandaşı oldukları tespit edilmiştir. Çalışma grubunu oluşturan olguların uyruklarına göre gruplandırılmış hali Tablo 4.2'de sunulmaktadır.

Tablo 4.2.Çalışma grubunu oluşturan olguların uyruklarına göre gruplandırılmış hali

	Sıklık	Yüzdeler	Geçerli Yüzdeler	Kümülatif Yüzdeler
AZERBAYCAN	1	1,3	1,3	1,3
BANGLADEŞ	1	1,3	1,3	2,7
ERMENİSTAN	3	4,0	4,0	6,7
İNGİLTERE	1	1,3	1,3	8,0
KAMERUN	2	2,7	2,7	10,7
KAZAKİSTAN	1	1,3	1,3	12,0
KENYA	1	1,3	1,3	13,3
KIRGIZİSTAN	2	2,7	2,7	16,0
KKTC	6	8,0	8,0	24,0
KONGO	1	1,3	1,3	25,3
NİJERYA	18	24,0	24,0	49,3
ÖZBEKİSTAN	2	2,7	2,7	52,0
PAKİSTAN	6	8,0	8,0	60,0
RUSYA	1	1,3	1,3	61,3
SİRBİSTAN	1	1,3	1,3	62,7
SURİYE	4	5,3	5,3	68,0
TC	15	20,0	20,0	88,0
TÜRKMENİSTAN	5	6,7	6,7	94,7
UKRAYNA	1	1,3	1,3	96,0
VIETNAM	2	2,7	2,7	98,7
ZİMBABVE	1	1,3	1,3	100,0
Toplam	75	100,0	100,0	

Çalışmamızda kalitatif değerler < 1000 S/CO, 1000-1999 S/CO, 2000-2999 S/CO, 3000-3999 S/CO ve >4000 S/CO olarak 5 farklı gruba ayrıldı. Bu numuneler; 14/75'i (%18.7) <1000 S/CO, 9/75'i (%12) 1000-1999 S/CO, 14/75'i (%18.7) 2000-2999 S/CO, 17/75'i (%22.7) 3000-3999 S/CO ve 21/75'i (%28) >4000 S/CO şeklindedir. Çalışmaya alınan numunelerin S/CO değerlerine göre gruplandırılmış hali Tablo 4.3.'de sunulmaktadır.

Tablo 4.3. Çalışmaya alınan numunelerin S/CO değerlerine göre gruplandırılmış hali

	Sıklık	Yüzdeler	Geçerli Yüzdeler	Kümülatif Yüzdeler
<1000	14	18,7	18,7	18,7
1000-1999	9	12,0	12,0	30,7
2000-2999	14	18,7	18,7	49,3
3000-3999	17	22,7	22,7	72,0
>4000	21	28,0	28,0	100,0
Toplam	75	100,0	100,0	

S/CO'ları 5 farklı gruba ayrılan numunelerin kantitatif değerleri incelendi ve çıkan sonuçlarla önceden bilinen kalitatif değerler arasındaki korelasyon bakıldı. Korelasyon araştırması yapılırken Spearman korelasyon testi kullanıldı ve iki parametre arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı (-0.25).

S/CO ve IU/ML birimleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamasının ardından bu iki parametre arasında regresyon analizi yapıldı. Regresyon analizine bakıldığı zaman ise korelasyon analizine benzer olarak herhangi bir anlamlı değere ulaşılamadı (-0.005).

5. TARTIŞMA

Dünya üzerinde yaklaşık olarak iki milyar kişinin HBV (Hepatit B Virüsü) ile karşılaştığı bilinmektedir. Bu popülasyon arasında yaklaşık olarak 350-400 milyon kişide kronik enfeksiyon olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında HBV ile ilişkili karaciğer hastalıklarından dolayı her yıl 1 milyon'a yakın insan hayatını kaybetmektedir (Dursun ve Albayrak, 2016). Hepatit B virüsü enfekte olduğu kişide akut, fulminan ya da kronik hepatit şeklinde belirtiler gösterebildiği gibi daha ciddi klinik vakalar olan karaciğer sirozu ya da hepatoselüler karsinoma yol açabilir (Arıkan ve Şanlıdağ, 2016).

Klinik olarak kullanılmakta olan HBV tespit yöntemleri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında ve yüksek ve düşük düzeylerde endemik HBV enfeksiyonu olan ülkeler arasında farklılık göstermektedir. En son teknolojiyi temsil eden kemilüminesan mikroparçacık immünoassay (CMIA) dahil olmak üzere birçok otomatik immüno-analiz geliştirilmiştir ve yaygın olarak HBsAg'yi saptamak için kullanılmaktadır. Bunun yanında HBsAg için, geliştirilmiş duyarlılığa sahip yeni nesil enzim bağlantılı immünosorban analizleri (ELISA), aynı anda çok sayıda numunenin hızlı taranmasına ve test edilmesine izin verdiği ve nispeten ucuz olduğu için hala yaygın olarak kullanılmaktadır (Peng ve diğ., 2011).

Hepatit B hastalarının tanısında kullanılan farklı parametreler antijenin saptanmasını sağlamaktadır. Hepatit B antijeninin saptanması kaset testlerle bile mümkün olmaktadır. Günümüzde ELISA tekniği ile HBsAg testleri yapılmaktadır. Tanı testlerini yaparken kullanılan kitlerin birimleri gözden geçirildiğinde S/CO ve IU/ML olmak üzere iki farklı kit piyasada bulunmaktadır. Yaygın olarak kullanılan parametre olan S/CO birimi ABBOTT ARCHITECT i2000SR cihazında ELISA kiti olarak çalışılmaktadır. Diğer bir parametre olan IU/ML birimi ile sonuç veren kitler de yine aynı şekilde ABBOTT ARCHITECT i2000SR cihazında ELISA kiti olarak sunulmakta ve çalışılmaktadır. Kalitatif sonuç elde ettiğimiz S/CO oranı, numunenin sinyal kuvvetinin ve dahili bir kesmenin sinyal gücünün ölçülmesiyle elde edilmiş bir orandır ve $S/CO \geq 1$ olan numuneler üretici firma tarafından pozitif olarak

tanımlanmıştır. Kantitatif sonuç elde ettiğimiz IU/ml ise sayısal değer olarak sonuç verir ve üretici firma tarafından IU/ml ≥ 0.05 olduğunda pozitif olduğu kabul edilir (Seth, 2012; Peng ve diğ., 2011). Bu ölçüm yöntemlerinin karşılaştırıldığı araştırma sayısı çok azdır. Testlerin spesifite ve sensitivitesi ile ilgili olarak üretici firma dışında fazla bir araştırma literatürde bulunmamaktadır.

Dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan tanı testlerinde kullanılan farklı HBsAg parametreleri sebebiyle bu iki farklı birim arasındaki korelasyon bağlantısının olup olmadığını araştırdık. Yaptığımız çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz verilerden yola çıkarak Hepatit B antijeninin farklı yöntemlerle tanımlanmasının mümkün olduğu görülmekle birlikte bu iki parametre arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır.

Literatürde HBsAg'nin farklı yöntemlerle taranmasıyla ilgili makale sayısının yok denecek kadar az olmasıyla birlikte IU/ML ve S/CO arasındaki korelasyon ilişkisi ile ilgili çalışma bulunmamıştır. Bu nedenle bu çalışma planlanmıştır. Bu konuyla ilgili literatür araştırmasında hastalığın diğer parametrelerini inceledikleri, karaciğer fonksiyon testleri gibi belirleyici testlerle yorumlandığı görülmüştür. Kronik Hepatit B'nin hangi fazda olduğunu gösteren laboratuvar incelemeleri (HBeAg, AntiHBe, ALT, AST, HBV-DNA, karaciğer inflamasyon düzeyini gösteren ultrasonografi ve karaciğer biyopsisi) ile dört farklı durumla karşılaşılmaktadır. Bu fazlardan immün toleran ve inaktif hepatit B taşıyıcı formunda tedavi uygulanmazken, diğer iki fazda ise alevlenme ve immün aktif dönemde tedavi başlanmaktadır (Lai ve diğ., 2003; Peng ve diğ., 2011; Yıldız Kaya, 2018)

Bizim yaptığımız çalışmada hastalığın fazını gösteren bir parametre kullanılmadan sadece IU/ML ve S/CO parametreleri kullanılmış olduğundan korelasyon saptanamamıştır. Bu nedenle korelasyonun olup olmadığını kesin olarak saptanabilmesi için bu çalışmanın parametreleri genişletilerek yeni bir çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kuzey Kıbrıs'ın bir üniversiteler ülkesi olması ve bu yüzden buraya çok farklı ülkelerden insanların eğitim için gelmesi bunun yanında turistik amaçla veya çalışma maksadıyla buraya çok fazla sayıda insan gelmesinden dolayı adamız kozmopolit bir ülkedir. Bu sebepten dolayı da birçok farklı hastalığın yanında Hepatit B'nin de görülme olasılığı çok fazladır.

Bizim çalışmamızda Hepatit B'nin tanısında kullanılan parametrelerden olan S/CO ve IU/ML arasında bir korelasyon olduğu hedeflenmiş fakat elde ettiğimiz verilere bakıldığında zaman hedeflenen korelasyon saptanamamıştır. Daha ileri seviyede analiz yapılabilmesi için hastalığın hangi evrede olduğu saptanarak daha hassas çalışma yapılması önerilir.

KAYNAKLAR

Abbott Core Laboratory (2018) ARCHITECT i2000SR Immunoassay | Abbott Core Laboratory. (2018)

<https://www.corelaboratory.abbott/int/en/offerings/brands/architect/architect-i2000SR> adresinden 20/05/2018 tarihinde alınmıştır.

Akçalı A., Şener A., Otkun M., Akgöz S., Otkun A. M. (2013) Üçüncü Basamak Bir Hastanede Sağlık Çalışanlarında Hepatit B Seroprevalansı. *Viral Hepatit Dergisi*, 19(1): 36-40

Akhan S., Aynur A., Çağatay A., Gönen İ., Günal Ö., Kaynar T. (2014). Kronik Hepatit B Virüsü İnfeksiyonunun Yönetimi: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Viral Hepatit Çalışma Grubu Uzlaşma Raporu. *Klinik Dergisi*, 27 (Özel Sayı 1): 2-18

Akıncı D. (2015) Kronik Hepatit B Hastalarında Oral Antiviral İlaçların Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi, Düzce

Alexander JM., Ramus R., Jackson G., Sercely B., Wendel GD. (1999) Risk of Hepatitis B Transmission After Amniocentesis in Chronic Hepatitis B Carriers. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 7: 283-286

Alter MJ. (2003) Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *Journal of Hepatology*, 39 S64–S69

Arıkan A., Şanlıdağ T. (2016) HBV'nin Moleküler Epidemiyolojisi. *Klinik Dergisi* 29(2): 56-9

Arslan U., Tuncer İ., Fındık D., Ural O. (2008). HBeAg Negatif, AntiHBe Pozitif Kronik Hepatit B Olgularında Prekor/Kor Bölge Mutasyonlarının ve Genotip Dağılımlarının Değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 22(3):123-129.

Aşan A. (2007). Denizli İlinin Hepatit B Seroprevalansının Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.

Aşkar E. (2006). Sağlık Çalışanlarında Hepatit B ve Hepatit C Seroprevalansı. Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Aydın M., Aygen B., Mıstık R., Öncül O., Tuna N., Ertem G. (2013) Fülminan Hepatit B Tedavisi: Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Derneği Viral Hepatit Çalışma Grubu Uzlaşı Raporu. Klimik Dergisi, 26(Özel Sayı 1): 2-11

Barçın T. (2010) Hepatit B ve Aşı Konusunda Üniversite Öğrencilerinin Bilgi, Tutum ve Davranışlarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

Batayneh N., Bdour S. (2002) Risk of perinatal transmission of hepatitis B virus in Jordan. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 10:127–132

Cao GW. (2009) Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World Journal of Gastroenterology*, 15(46): 5761–5769

Bıyık M., Asıl M. (2017) Kronik Hepatit B Erken Tanısında Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinin Önemi. *Güncel Gastroenteroloji* 21/1

Caredda F., Antinori S., Pastecchia C., Coppin P., Palla M., Ponzetto A., Rizzetto M., Moroni M. (1989) Incidence of hepatitis delta virus infection in acute HBsAg-negative hepatitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 159:977–979

Çıracak M. (1999) Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Sistemleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 19(4):242-8

Dane DS., Cameron CH., Briggs M. (1970) Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *The Lancet*, Vol. 295, (7649):695-698.

Dursun H., Albayrak A. (2016) Kronik Hepatit B Tedavisinde Mevcut Tedavilerle Geline Son Durum ve Ufuktaki Yeni Hedefler. *Güncel Gastroenteroloji*, 20/2

Elgouhari HM., Abu-Rajab Tamimi TI., Carey WD. (2008) Hepatit B virus infection: Understanding its epidemiology, course and diagnosis. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 75(12):881-889

Elmi Ş. (2007). HIV/AIDS, HBV, HCV, Sifiliz ve Genital Herpes'in Toplumda ve Riskli Davranış Gösteren Seks İşçilerinde Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Haseki Eğitim ve Aratırma Hastanesi, İstanbul.

Gan SD., Patel KR. (2013) Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Investigative Dermatology*, Vol.133

Ganem D, Prince AM. (2004) Hepatitis B Virus Infection – Natural History and Clinical Consequences. *The New England Journal of Medicine* 350:1118-29.

Garfein RS., Bower WA., Loney CM., Hutin YJF., Xis G., Jawanda J., Groom AV., Nainan OV., Murphy JS., Bell BP. (2004) Factors associated with fulminant liver failure during an outbreak among injection drug users with acute hepatitis B. *Hepatology*,40:865-873

Güçlü E., Geyik FM. (2012). Hepatit B Enfeksiyonu ve Korunma. *Konuralp Tıp Dergisi*, 4(2):54-58

Guo H., Mason WS., Aldrich CE., Saputelli JR., Miller DS., Jilbert AR., Newbold JE. (2005) Identification and Characterization of Avihepadnaviruses Isolated from Exotic Anseriformes Maintained in Captivity. *Journal of Virology*, 79(5): 2729–2742.

Hollinger FB. (2010) Hepatitis B virus. *Journal of Viral Hepatitis*, 17(1):1-15

Hou J., Liu Z., Gu F. (2005) Epidemiology and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. *International Journal of Medical Sciences*, 2(1):50-57.

Hruska JF., Clayton DA., Rubenstein JLR., Robinson WS. (1977) Structure of Hepatitis B Dane Particle DNA Before and After the Dane Particle DNA PolymeraseReaction. *Journal of Virology*, 21(2): 666–672.

Kayabaş Ü., Bayındır Y., Yoloğlu S., Akdoğan D. (2007) Kronik Hepatit B Hastalarının Aile Bireylerinde HBsAg Taraması. *Viral Hepatit Dergisi*, 12(3); 128-132

Kesen E. (2006). Hepatit B Virüs İnfeksiyonlu Hastalarda ACE, TNF α - 238, TGF β 1 + 25, VDR 8 Gen Polimorfizimleri. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Kim BK., Revill A., Ahn SH. (2011) HBV genotypes: relevance to natural history, pathogenesis and treatment of chronic hepatitis B. *Antiviral Therapy*, 16:1169-1186

Knutsson M, Kidd-Ljunggren K. (2000) Urine from chronic hepatitis B virus carriers: Implications for infectivity. *Journal of Medical Virology*, 60:17-20.

Lai CL., Ratziu V., Yuen MF., Poynard T. (2003) Viral hepatitis B. *The Lancet*, Vol.362, 20/27: 2089-2094

Liang TJ. (2009) Hepatitis B: The Virus and Disease. *Hepatology*, 49(5 Suppl): S13–S21.

Liaw YF., Brunetto MR., Hadziyannis S. (2010) The natural history of chronic HBV infection and geographical differences. *Antiviral Therapy*, 15 Suppl. 3: 25-33

Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., Abraham J. ve diğ. (2012). Global and Regional Mortality from 235 Causes of Death for 20 Age Groups in 1990 and 2010: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380:2095-2128.

Mahoney FJ. (1999) Update on Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12, No. 2: p. 351–366

Maruyama T., Schödel F., Ino S., Koike K., Yasuda K., Peterson D., Milich DR. (1994) Distinguishing Between Acute and Symptomatic Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Gastroenterology*, Volume 106, Issue 4, Pages 1006–1015

Mauss S., Berg T., Rockstroh J., Sarrazin C., Wedemeyer H. (2017) *Hepatology*. Hamburg: Druckerei Heinrich GmbH.

McMahon BJ., Alward WLM., Hall DB., Heyward WL., Bender TR., Francis DP., ve diğ. (1985) Acute Hepatitis B Virus Infection: Relation of Age to the Clinical

Expression of Disease and Subsequent Development of the Carrier State. *The Journal of Infectious Diseases*, vol.151: 599-603.

Özdemir D., Balık İ. (2002) Ülkemizde Hepatit B Virüsü (HBV) Genotip Dağılımı. *Viral Hepatit Dergisi* (1): 451-454

Peng, J., Cheng, L., Yin, B., Guan, Q., Liu, Y., & Wu, S. et. al. (2011). Development of an economic and efficient strategy to detect HBsAg: Application of “gray-zones” in ELISA and combined use of several detection assays. *Clinica Chimica Acta*, 412(23-24): 2046-2051.

Perrillo RP., Aach RD. (1981) The clinical course and chronic sequelae of hepatitis B virus infection. *Seminars in Liver Disease* (1):15-25.

Saveci E. (2006) Gebelerde Hepatit B Seroprevalansı. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Sayan M., Dogan C. (2012) Genotype/subgenotype distribution of hepatitis B virus among hemodialysis patients with chronical hepatitis B. *Annals of Hepatology*, Vol. 11 (6): 849-854

Sayan M., Şentürk O., Akhan SC., Hulagu S., Çekmen MB. (2010). Monitoring of Hepatitis B Virus Surface Antigen Escape Mutations and Concomitantly Nucleos(t)id Analogue Resistance Mutations in Turkish Patients with Chronic Hepatitis B Infection. *International Journal of Infectious Disease*, (14):136-141.

Schaefer S. (2007) Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology*, 7; 13(1): 14–21.

Şen A. (2009). Hepatit B Seroprevalansı ve HBsAg (+) Gebelerde İntrauterin Geçişin Risk Faktörlerinin Araştırılması. Aile Hekimliği Uzmanlık Tezi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Seth AK. (2012) HBsAg Quantification in Clinical Practice. *Journal of Clinical Experimental Hepatology*, 2(1): 75–80.

Simon JB. (1971) Hepatitis-associated (Australia) antigen: a review. C.M.A. Journal, /Vol. 105: 618-631

Smedile A., Farci P, Verme G., Cargnel A., Dentico P., Opolon P. ve diğ. (1982) Influence of delta infection on severity of hepatitis B. The Lancet, Vol. 320, Issue 8305, Pages 945-947

Sonsuz A. (2007). Kronik Hepatit B ve C. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Sempozyum Dizisi No: 58, 79-90.

Sunbul M. (2014) Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance. World Journal of Gastroenterology, 20(18): 5427–5434.

Tabak F. (2007) Viral Hepatitler. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi, 55: 195-214

Tekin A., Aydoğdu B. (2011) Mardin İlinde Elektif Cerrahi Öncesi Tetkik Edilen Çocuklarda HBV, HCV ve HIV Seroprevalansı. Konuralp Tıp Dergisi, 3(2):7-11

Ural O., Sayan M., Akhan S., Sümer Ş., Şimşek F. (2013) Türkiye’de ilk Kez Saptanan Hepatit B Virüs Genotip H Enfeksiyonu Olgusu. Mikrobiyoloji Bülteni, 47(3): 550-55.

Voller A., Bartlett A., Bidwell DE. (1978) Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. Journal of Clinical Pathology, 31, 507-520

World Health Organization, Weekly epidemiological record, No. 40, 2009, 84, 405–420

Yamazhan T. (2011) Kronik Hepatit B Tedavisinde Güncel Durum. ANKEM Dergisi, 2011; 25(Ek 2):234-237

Yim HJ., Lok ASF. (2006) Natural History of Chronic Hepatitis B Virus Infection:What We Knew in 1981 and What We Know in 2005. HEPATOLOGY, Vol. 43, No. 2, Suppl. 1

Yıldız Kaya S. (2018). HBeAg Negatif Kronik Hepatit B Hastalarında Asemptomatik Taşıyıcılık Ve Aktif Hastalık Ayrımının Yapımında Kantitatif HBsAg'nin Rolü. XIV. Ulusal Viral Hepatit Kongresi: 29 Nisan 2018 – Antalya: (SS-03 06)

Yolken RH. (1980) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA): A Practical Tool for Rapid Diagnosis of Viruses and Other Infectious Agents. The Yale Journal of Biology and Medicine 53: 85-92