

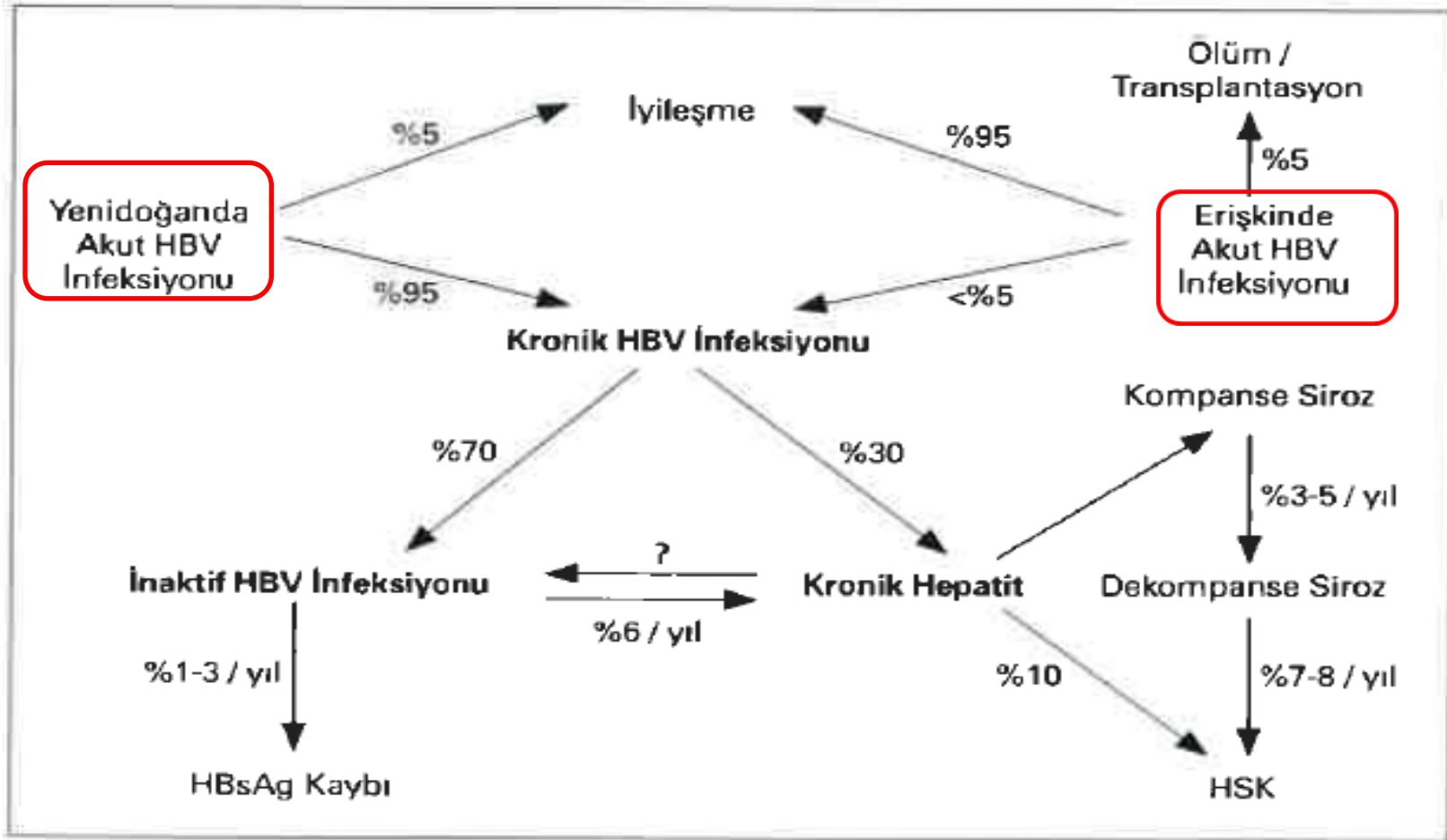
Hepatit B'de Serolojik ve Moleküler Tanı

Atipik Serolojik Profiller

BAHAR ÖRMEN

**İ.K.Ç.Ü. Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji
Kliniği**

HBV infeksiyonunun doğal seyri



Şekil 1. Hepatit B virusus infeksiyonunun doğal seyri (Kaynak 46'dan uyarlanmıştır).

HBV'de Tanı

- Biyokimyasal testler
- **Serolojik testler**
- **Moleküler testler**
- Histopatolojik değerlendirme

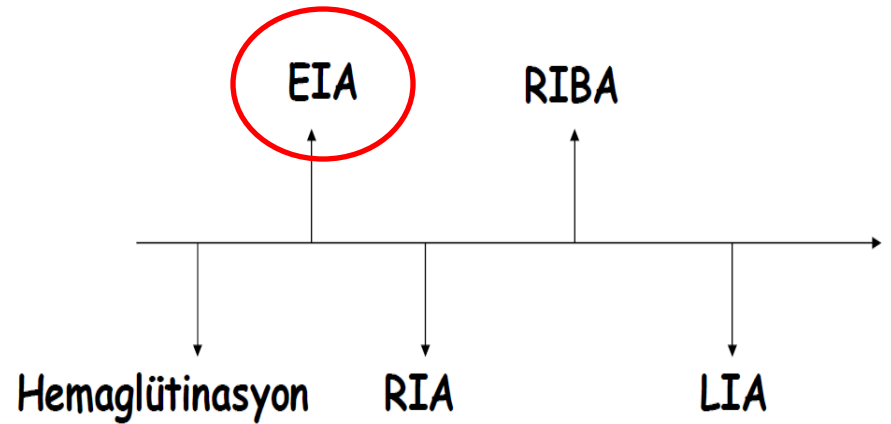
Serolojik Testler

- HBV infeksiyonu tanısında
- HBV'de hastalığın evresi
- Virusun infektivite derecesi
- Hastalığın prognozu
- HBV'ne karşı bağışıklık durumu
(duyarlı, geçirmiş, aşıllı)

Serolojik Testler

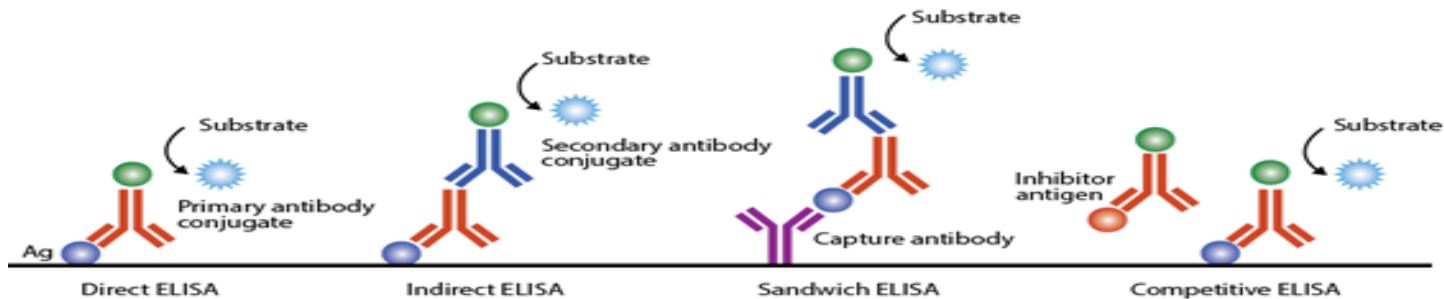
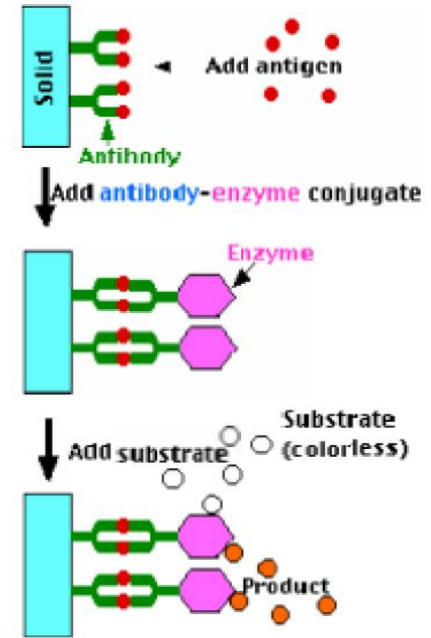
Antijen ve antikor testleri: kolay, hızlı, ekonomik

- HBs Ag
- Anti-HBs
- Anti-HBc IgM
- Anti-HBc
- HBeAg
- Anti-HBe



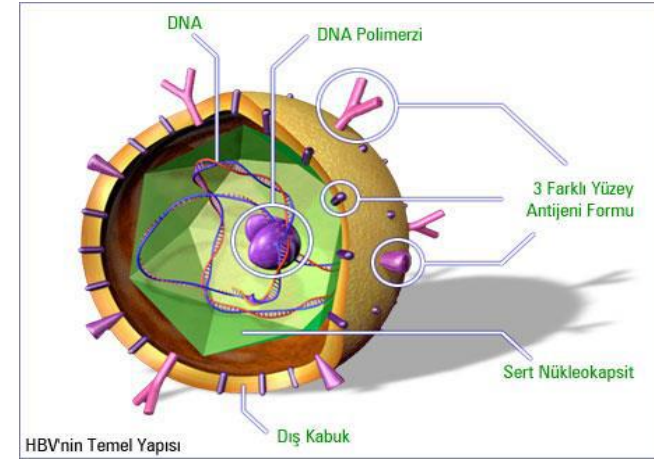
ELİSA

- Antikor / antijen kaplı katı faz üzerine numune örnek eklenmesi,
- Gerekli inkübasyon süresi sonrasında serbest ajanlardan arındırılarak enzim işaretli konjugat eklenmesi ve inkübe edilmesi,
- İşaretli konjugatı renklendirecek substrat eklenerek reaksiyonun görülebilir hale gelmesi,
- Belirlenen süre sonunda reaksiyonu durdurarak okuma işlemi yapılması esasına dayanır.



HBsAg

- Zarf geninin kodladığı yüzey antijeni
- Küçük, orta ve büyük HBsAg proteinleri
- İnfeksiyöz ve infeksiyöz olmayan sferik partiküller
- **Kişinin HBV ile infekte olduğunu** gösterir
- Virüsle temasdan **3- 9 hafta sonra**,
- ALT yükselmesinden **1-3 hafta** ve semptomlardan **3-5 hafta önce** serumda saptanır
- Akut infeksiyonda HBs Ag düzeyi pik yapar, **4-6 ayda saptanamaz** düzeye iner
- **Altı aydan uzun** süre ile serumda pozitif kalması **kronikleşmeyi** gösterir



HBsAg

- HBsAg hepatosit çekirdeğinde **viral cccDNA'nın transkripsiyonu** sonucu oluşan iki farklı mRNA translasyonu ile sentezlenir
- Bu nedenle HBsAg miktarı enfekte hücre havuzunun göstergesi olarak kabul edilmektedir
- Bu süreç antiviral ilaçlardan etkilenmemektedir.
- HBV DNA ise, **pregenomik RNA** üzerinden **revers transkriptaz (RT)** enzim aracılığıyla sentezlenir
- Bu nedenle RT inhibitörü **antiviral tedavi yanıtı takibinde HBV DNA** kullanılmaktadır.
- Rutin laboratuvar uygulamalarında **HBsAg kalitatif test sonuçları S/CO** (sample/cut off) olarak verilir.(Duyarlılık sınırı ≤ 0.112 IU/mL)

Anti-HBs

- **HBV karşı bağışıklığı** gösteren antikordur
- **Doğal infeksiyon** yada **aşılama** sonrası ortaya çıkar
- Akut infeksiyon sırasında HBsAg'nin negatifleşmesinden bir süre sonra ortaya çıkar
- Aşılamadan **4-8 hafta sonra anti-HBs** kontrolü önerilir
- Aşılama sonrası **≥ 10 IU/L** antikor düzeyi infeksiyondan korunmada yeterlidir
- Antikor yanıtı oluşan bireylerde immun hafıza oluşması nedeniyle yıllar içinde antikor yanıtı kaybolsa da kişiyi infeksiyondan korumada yeterli olduğu bildirilmektedir
- 2017 DSÖ raporunda 3 doz aşı uygulanan ve İmmun sistemi normal olan bireylerde rapel dozun gerekmediği bildirilmiş

HBcAg

- **HBc Ag** kor geninin kodladığı virüs kapsidini oluşturan kuvvetli immunojen bir proteindir
- Asıl olarak **karaciğerde** bulunur
- Serumda serbest halde bulunmaz
- Anti-HBc yanıtını T hücre yardımı olmadan da uyarabilmektedir

Anti-HBc

- **HBV ile karşılaşmayı** gösterir
- İnfeksiyonun **tüm dönemlerinde** pozitiftir
- **Geçirilmiş HBV** infeksiyonunda anti-HBe ve anti-HBs negatifleşse bile serumda **ömür boyu saptanır**
- Koruyucu antikor değildir
- Çoğu serolojik yöntem ile izole antiHBc IgG tespit edilemez
- **Anti-HBc total** şeklinde ölçüm yapılır

Anti-HBcIgM

- HBV ile infeksiyonda **ilk oluşan antikordur**
- Akut HBV de HBsAg kaybolup anti-HBs oluşmadan önce **“pencere döneminde”** infeksiyonun tek göstergesidir
- **Akut infeksiyon** tanısı koydurur
- ALT yüksekliği ile eş zamanlı ortaya çıkar
- **3-6 ay** süre serumda pozitif kalır
- Yerini daima anti-HBc IgG ye bırakır
- **Akut infeksiyonda** serumda **yüksek titrede pozitif** saptanır
- KHB'nin reaktivasyon yada akut alevlenmesinde düşük titrede pozitiflik saptanabilir

AntiHBc IgM kantitasyonu

AntiHBc aviditesi

Akut-kronik enfeksiyon ayırımında:

- **AntiHBc IgG avidite**
- **AntiHBc IgM testinin S/CO (sinyal/cut-off) oranı: 10 (NPD%100,PPD %99)**
- Bugün kullanılan ticari kitler, akut enfeksiyondaki yüksek düzeydeki **(600-700 PEI/ml)** anti-HBc IgM antikorlarını saptayabilecek şekilde düzenlenmiştir.
- **Kantitatif anti-HBc IgM** testleri kullanılarak **7-10 PEI-U/ml** gibi düşük düzeydeki anti HBc IgM antikorlarının saptanması, kronik enfeksiyonun akut alevlenmelerinin tanısında HBV DNA gibi pahalı testlere gerek kalmaksızın yararlı olabilir

Colloredo G, Bellati G, Sonzogni A, et al. Semiquantitative assessment of IgM antibody to hepatitis B core antigen and prediction of the severity of chronic hepatitis B. J Viral Hepat 1999; 6: 429-34.

Rodella A, Galli C, Terlenghi L, Perandin F, Bonfanti C, Manca N. Quantitative analysis of HBsAg, IgM anti-HBc and anti-HBc avidity in acute and chronic hepatitis B. J Clin Virology 2006;37:206-12.

Hepatit B kor ilişkili Antijen (HBcrAg)

- **HBcAg ile HBeAg** arasında 149 aa'lık ortak bir bölge vardır
- HBcrAg denatüre edilmiş HBeAg dir
- Bu iki antijen birlikte **kor ilişkili antijen** olarak isimlendirilir
- **Serumda HBcrAg kantitasyonu ile viral yük, intrahepatik HBV DNA ve ccc DNA** arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir
- KHB de **aktivasyonun gösterilmesi**
- HBeAg(-) **kronik infeksiyonu** (inaktif KHB) **kronik hepatitden** ayırmada
- Antiviral tedavi sırasında **HCC gelişim riskini** izlemede
- KHB de **tedavi yanıtının izlenmesinde** kullanılabilir
- HBcrAg yüksek olması HBV ile ilişkili proteinlerin sentezinin devam ettiğine işaret eder!!!
- Antiviral tedavi sırasında düşük titrede HBcrAg tespiti tedavinin sonlanabileceğinin göstergesi olabilir

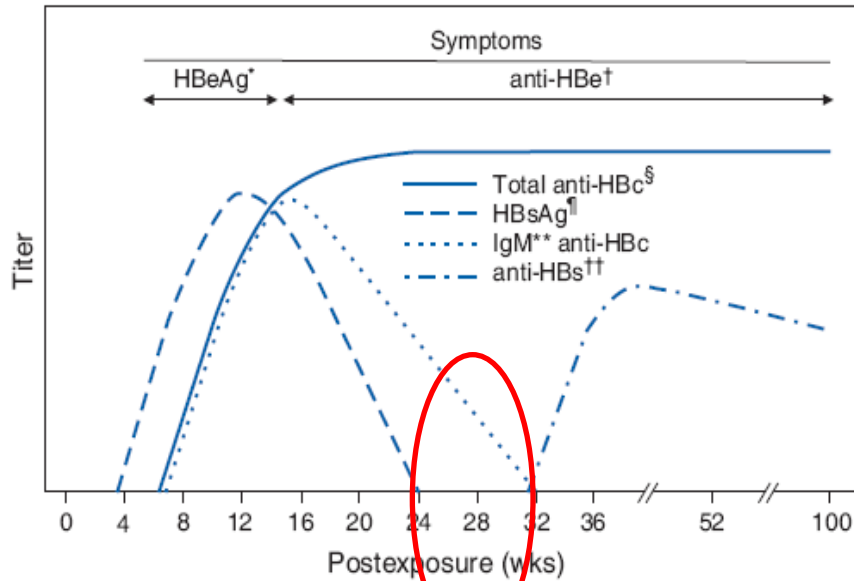
HBeAg

- Prekor bölgesinin kodladığı aksesuar bir protein
- Virus replikasyonu için gerekli değildir
- HBcAg'nin hepatosit endoplazmik retikulumundaki yıkım ürünüdür
- Serumda saptanması **aktif replikasyon** göstergesidir
- **Akut HBV** infeksiyonu sırasında serumda saptanır
- İnfeksiyonun doğal seyri sırasında serumda Anti-HBs den önce negatifleşir
- Kronik HBV de **HBeAg + kronik infeksiyon (immün toleran)** dönemde HBeAg düzeyi yüksektir,
- **HBeAg + kronik hepatit (immün reaktif)** döneminde ise serumda miktarı azalır ve kaybolur

Anti-HBe

- HBe Ag negatifleştikten sonra anti-HBe saptanabilir hale gelir ve yıllarca serumda pozitif kalır
- HBeAg üretimini engelleyen mutasyonlar yoksa; HBeAg(-), anti-HBe(+) olması virus replikasyonunun baskılandığı ve sonlandığını gösterir
- Serokonversiyon sırasında serumda bir süre HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitif bulunabilir
- HBeAg(+) KHB tedavisinin başarı kriterlerinde biri HBeAg serokonversiyonudur
- PegIFN tedavi başarısını öngörmede ve izlemede HBeAg kantitasyonu anlamlı olabilir
- Ticari standart kantitatif HBeAg testleri mevcut değildir

Akut Hepatit B infeksiyonu



* Hepatitis B e antigen.

† Antibody to HBeAg.

§ Antibody to hepatitis B core antigen.

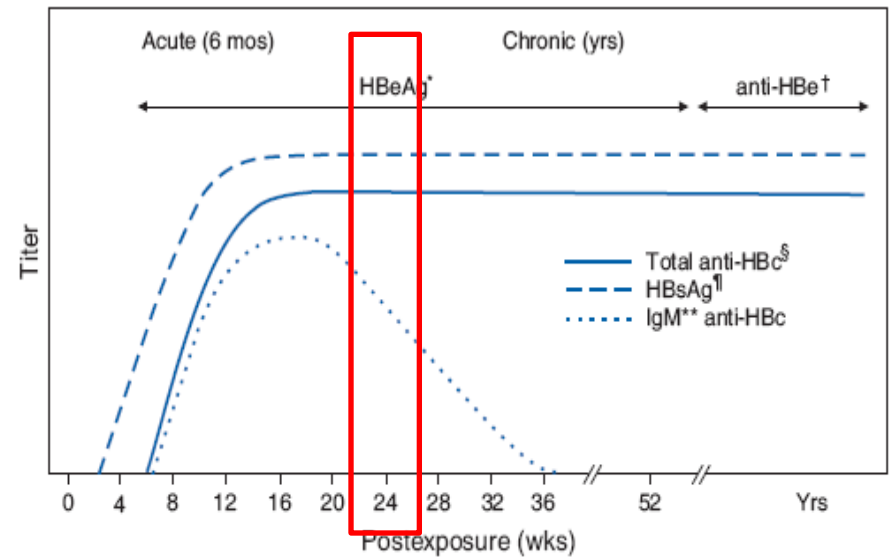
¶ Hepatitis B surface antigen.

** Immunoglobulin M.

†† Antibody to HBsAg.

**Pencere
dönemi**

Kronikleşen HBV infeksiyonu



* Hepatitis B e antigen.

† Antibody to HBeAg.

§ Antibody to hepatitis B core antigen.

¶ Hepatitis B surface antigen.

** Immunoglobulin M.

Kantitatif HBsAg

- Kronik Hepatit B (KHB) infeksiyonun evrelemesi, takibi
- KHB de tedaviye başlama ve kesme kararını belirlemede
- KHB de tedavi yanıtını izlemede;
Pegileinterferon tedavisi
- Komplikasyonların öngörülmesi
- Akut /kronik HBV infeksiyonu ayırımında:
AkutHBV de ilk 4 hafta içinde HBsAg titresinde başlangıca göre
>%50 düşüş iyileşme göstergesidir

HBsAg kantitasyonu için DSÖ tarafından geliştirilen bir standart (IU/mL) bulunmaktadır

Ticari testlerde kantitasyon aralığının dar olması örneklerin dilüe edilerek çalışılmasını gerektirmektedir

Otomatize HBsAg kantitasyon sistemleri

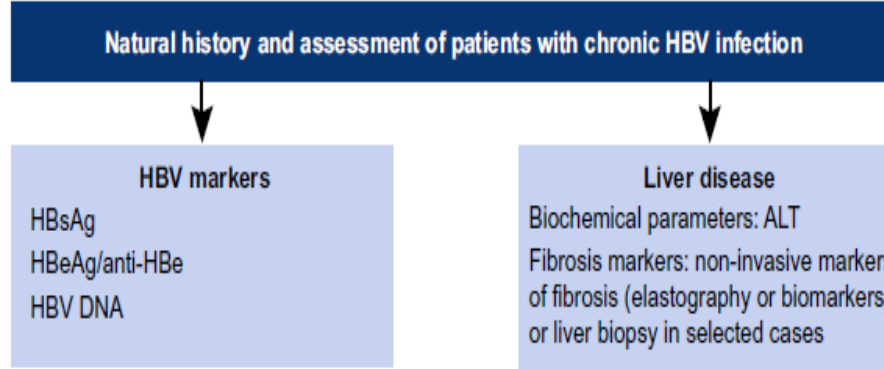
	Architect QT (Abbott Laboratories)	Elecsys HBsAg II Quant (Roche Diagnostics)
Range (IU/mL) (serumda)	0.05–250	0.05–130
Dilusyon	Manuel 1:999 Sistemde 1:500	Manuel > 1:100 - 1:400 Sistemde 1:100 -1:400
Final range (IU/mL)	0.05–250,000	0.05– 52,000
Metod	Kemiluminesan mikropartikül immunoassay	Elektrokemiluminesan

[Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2014 Feb;8\(2\):185-95. doi: 10.1586/17474124.2014.876362.](#)

Hepatitis B surface antigen quantification in chronic hepatitis B and its clinical utility.

[Hadziyannis E¹, Hadziyannis SJ.](#)

Kronik HBV'nin Evreleri



	HBeAg positive		HBeAg negative	
	Chronic infection	Chronic hepatitis	Chronic infection	Chronic hepatitis
HBsAg	High	High/intermediate	Low	Intermediate
HBeAg	Positive	Positive	Negative	Negative
HBV DNA	$>10^7$ IU/ml	10^4 - 10^7 IU/ml	$<2,000$ IU/ml ¹⁰⁰	$>2,000$ IU/ml
ALT	Normal	Elevated	Normal	Elevated*
Liver disease	None/minimal	Moderate/severe	None	Moderate/severe
Old terminology	Immune tolerant	Immune reactive HBeAg positive	Inactive carrier	HBeAg negative chronic hepatitis

Genotip D de tek ölçümde:

HBV DNA <2000 IU/ml ve HBsAg <1000 IU/ml olması İnaktif HBV infeksiyonu tanısı koydurur

HBsAg
(log10)

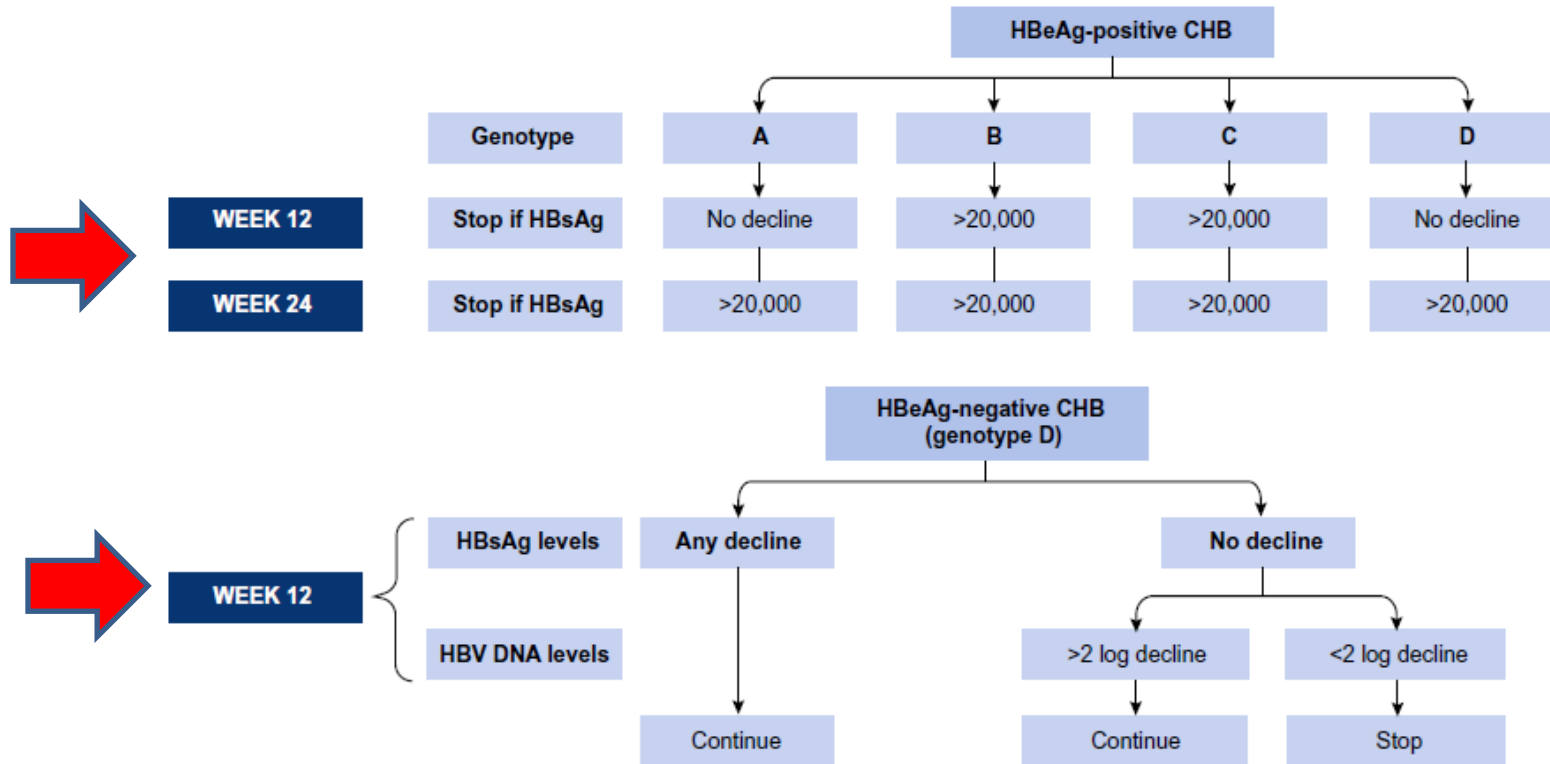


Fig. 4. Week 12 and 24 stopping rules for HBeAg-positive and -negative patients treated with PegIFN α . These rules are based upon viral genotype, HBsAg and HBV levels.

HBeAg negatif D dışı genotiplerde PegIFN tedavisinin 12.haftasında başlangıca göre HBsAg düzeyinde $\geq\%10$ azalma varsa tedavi başarısı yüksek (PPD %50)

Komplikasyonların öngörülmesinde HBsAg kantitasyonu

Tseng ve ark. çalışmasında 1068 HBeAg (-) ve HBV DNA <2000IU/ml hastayı izlemişler

- HCC için 10 yıllık kümülatif insidans ;
HBsAg <1000 IU/ml olanlarda %0.2 iken
HBsAg \geq 1000 IU/ml olanlarda ise %2.2
- HCC için diğer risk faktörleri: ileri yaş,erkek cinsiyet, yüksek ALT
- HBV DNA \geq 2000IU/ml olan grupta ise serum HBsAg titresi ile HCC riski arasında ilişki saptanmamış

Tseng T,High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load.Gastroenterology 2012; 142: 1140-1149.

HBV'de serolojik testlerin yorumu

	HBs Ag	HBe Ag	Anti-HBe	Anti-HBc IgM	Anti-HBc	Anti-HBs
Duyarlı	-				-	-
Doğal Bağışık	-				+	+
Aşı ile bağışık	-				-	+
Akut Hepatit	+	+	-	+	+	-
Kronik hepatit	+	+/-	+/-	-	+	-
İzole HBc	-				+	-

Moleküler Testler

- **HBV DNA saptanma ve kantitasyonu**
- **HBV DNA daki çeşitli mutasyonları saptama;**
 - Antiviral direnç mutasyonlarının saptanması
 - HBeAg (-) olgularda prekor ve kor promoter mutasyonlarının saptanması
 - Yüzey antijen mutasyonlarını saptama
- **HBV genotipinin belirlenmesi**
- **cccDNA** nın saptanması ve kantitasyonu

Moleküler testler:

- Yüksek analitik duyarlılık
- Geniş dinamik aralık
- Yüksek tekrarlanabilirlik
- Genotipler arası test ölçüm farklılığının olmaması gibi özelliklere sahip olmalıdır

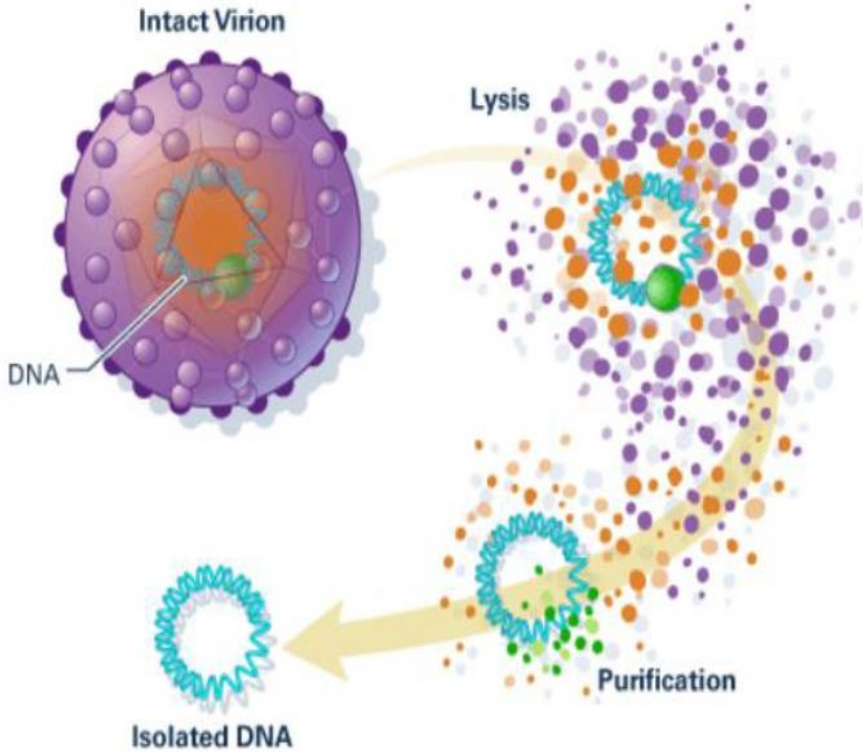
HBV DNA

- **HBV DNA** serumda HBsAg den yaklaşık **3 hafta önce** saptanır

Kantitatif HBV DNA testleri kullanım alanları:

- HBV infeksiyonunu saptamak
- KHB'de evreleme ve tedavi endikasyonu koymada
- Tedavi yanıtı izleminde
- Antiviral ilaç direncinin saptanmasında
- Serolojik tanıdan kaçan mutant infeksiyon tanısında
- Okült HBV infeksiyon tanısı
- Riskli temasda bulaşın erken saptanması

HBV DNA



Hedef amplification:

- PCR (polimeraz zincir reaksiyonu)
- Real-time PCR
- NASBA
- TMA
- PCR:** Virusun lizisi ardından DNA'nın saflaştırılması ve çoğaltılması sonrası jel elektroforezinde yürütülerek ölçülmesi yöntemidir
En özgül, en duyarlı yöntem

Signal amplification:

- bDNA
saflaştırma yapılmadan HBV DNA'nın serumda ölçülmesi

Prob amplifikasyon :

- Ligaz zincir reaksiyonu
- Siklusa katılan prob tekniği

HBV Moleküler Tanı

Metot	Ticari isim	Üretici firma	Tespit aralığı (IU mL)	Tespit sınırı (IU\mL)
Yarı otomatize qPCR	COBAS AmpliPrep COBAS Taqman HBV Test v2.0	Roche Molecular System, CL, USA	20-1,7x10 ⁷	20
Yarı otomatize RT-PCR	COBAS TagMan HBV Test	Roche Molecular System, CL, USA	29-1,1x10 ⁷	6
Otomatize RT-PCR	Abbott RT HBV	Abbott Diagnostic	10-1x10 ⁹	10
Dallanmış DNA	VERSANT HBV 3,0	Siemens Healthcare	2000-1x10 ⁸	2000

PCR

Real-time PCR (RT-PCR) son yıllarda tercih edilmektedir:

Duyarlılığı yüksek (alt sınırı <20 IU/ml)

Geniş bir aralıkta kantitasyon (7-8 log₁₀)

Kontaminasyon riski düşük

DSÖ tarafından belirlenen uluslararası standarta göre HBV DNA miktarı

IU/ml olarak ifade edilmektedir

1 IU/ml= 5.26-5.82 kopya/ml

1 pg/ml=283 000 kopya/ml

1 pg/ml= 49 000 IU/ml

1log₁₀ kopya/ml= 10¹ kopya/ml

HBV replikasyon aracılarının saptanması:

- Karaciğer dokusundaki HBV replikasyon aracılarının saptanması, viral replikasyonun duyarlı bir göstergesidir.
- Antiviral tedavi sonrasında HBV DNA serumda negatifleşse bile hepatositlerde replikasyon devam edebilir
- Bu amaçla **cccDNA** ve viral **mRNA** lar araştırılmaktadır.
- RT-PCR ile kantitasyonu yapılabilen replikasyon araçları tedavi izleminde değerli bilgi sağlar
- Ancak bu testlerin standardizasyonu olmadığından henüz rutin de kullanılmamaktadır

Antiviral direnç mutasyonlarının saptanması

Fenotipik yöntemler:

- Hastadaki tüm virus popülasyonunda antiviral ilaçların inhibitör etkisini ölçen invitro testlerdir
- İlacın inhibitör konsantrasyonu IC50 ve IC90 olarak ifade edilir
- Yeni, etkisi bilinmeyen mutasyonların incelenmesi, birden çok mutasyonun birarada olması durumunda virus üzerindeki etkinin araştırılmasında en yararlı yöntemdir
- Pahalı, zor, zaman alıcı, araştırma bazında kullanılmaktadır
- Hayvan hepadnavirus modelleri, transfeksiyon temelli modeller, hücreden yoksun enzim deneyleri

Genotipik yöntemler:

- HBV DNA da ilaç direnci ile ilişkili olduğu **bilinen spesifik mutasyonların saptanması** esasına dayanır
 - Seçilmiş hedefler dışındaki mutasyonları saptamaz
- DNA dizi analizi (**direkt sekans**, yeni nesil sekanslama) ve hibridizasyon yöntemi (**LiPA**, RFLP, RT-PCR)

ATİPİK PROFİLLER

Atipik serolojik profiller

- **Laboratuvar kaynaklı:**

- Örneğin alınması, saklanması, transportu
- Tanı kitlerinde yetersizlikler
- Test yapımı esnasındaki hatalar

- **Etken kaynaklı:**

- Çoklu virüs enfeksiyonu
- Mutant virüsler

- **Konak kaynaklı:**

- Antikor yanıtında yetersizlik, cevapsızlık
- İmmun tolerans, immün yetmezlik, uzun süreli infeksiyon öyküsü
- Pasif antikor geçişi

- **İnfeksiyona bağlı:**

- Erken dönemi
- Pencere dönemi
- Okült infeksiyon

Atipik serolojik profiller

Atipik serolojik profillerle karşılaşıldığında:

- Testin aynı örnekle tekrarı
- Testin yeni bir örnekle tekrarı
- Farklı bir kit ile testin tekrarı
- HBV DNA

Atipik serolojik profiller

- İzole anti-HBc pozitifliği
- Okült HBV infeksiyonu
- HBsAg ve anti-HBs nin birlikte pozitifliği
- İzole HBsAg pozitifliği
- İzole anti-HBs pozitifliği
- HBeAg ve anti-HBe birlikte pozitifliği /negatifliği
- Anti-HBc negatif HBV infeksiyonu

İzole Anti-HBc pozitifliği

HBsAg ve anti-HBs (-) iken anti-HBc (+) olma durumudur

- Türkiye’de kan donörlerinde %2-2.5
- **İyileşmiş HBV infeksiyonu:** En sık neden

Yıllar içinde anti-HBs’nin saptanabilir seviyenin altına inmesi,
HBVDNA(-)

- **Okült HBV infeksiyonu:** Kronik HBV infeksiyonunda HBsAg’ nin saptanabilir düzeyin altında olması, HBV DNA (+)
- **Akut infeksiyonun uzamış pencere dönemi:**
HBsAg kaybolmuş, ancak henüz anti-HBs oluşmamıştır
- **Pasif antikor geçişi:** Kan ve kan ürünü transfüzyonu veya anneden bebeğe pasif antikor geçişi ile geçici 3-6 ay süreli anti-HBc (+) görülebilir
- **Yalancı anti-HBc (+):** %1-35

İzole Anti-HBc pozitifliği

- HBV açısından endemik bölgelerde
- HCV, HIV koinfeksiyonunda
- Hemodiyaliz hastaları, organ nakil alıcıları
- Otoimmün hepatit
- Homoseksüeller
- Damar içi madde kullananlarda
- ANA ve RF pozitifliği olanlarda çapraz reaksiyonla anti-HBc(+)

İzole anti-HBc (+)

- Kan ve kan ürünü transfüzyonu
- İmmünsüpresif tedavi alacaklar
- Karaciğer/organ nakli olacak hastalarda bulaştırıcılık ve aktivasyon açısından önemli!

Okült HBV infeksiyonu

- Pencere dönemi dışında, **HBsAg negatif** bireylerde karaciğer dokusunda HBV DNA tespit edilmesi (serumda HBV DNA +/-)
- Serumda tespit edilebilir **HBV DNA** düzeyi genellikle **<200 IU/ml**
- Okült Hepatit B (OHB) infeksiyonu iki şekilde görülebilir:
 - Seropozitif OHB:** anti-HBc ve/veya anti-HBs pozitif
 - Seronegatif OHB:** anti-HBc ve anti-HBs negatif

Okült HBV enfeksiyonu nedenleri:

- HBV genom mutasyonları (S gen bölgesi, tedavi ilişkili, RNA splicing , X gen mutasyonları)
- HCV, HIV, *Schistosoma mansoni* koinfeksiyonları
- Konak immün yanıtının baskılanması
- HBV DNA da meydana gelen epigenetik değişiklikler
- HBV DNA nın konak genomuna integrasyonu
- İmmün kompleks oluşumu ile HBsAg'nin anti-HBs ile maskelenmesi
- Periferik kan mononükleer hücrelerin HBV ile enfeksiyonu

Okült HBV infeksiyonu

- Damar içi madde kullanıcılarında %45-50
- Hemodiyaliz hastalarında %36
- HIV (+) bireylerde %8-51
- Kronik HCV de %30-95

Aşı kaçak mutant virüsler

- **S gen bölgesinde 124-147. aa arasında “a determinanti”**
tüm subtiplerde ortak, antiHBs yanıtı için dominant B hücre epitop
- Aşılama yada Hepatit B İmmünglobülin (HBIG) kullanımı ile “a”
determinant bölgesinde , HBsAg ye düşük bağlanma affinitesine neden
olan bir çok mutasyon HBsAg (-) test sonuçlarına yol açmaktadır (**tanısal
kaçak mutantlar**)
- **Aşı kaçak mutant virüsler** ile yanlış OHB gelişebilir
- **Hepatit B aşılmasına azalmış yanıt !, HBIG ile yetersiz koruma!**
- **Aşı kaçak mutant virüsler, aşılanmış bireylere de bulaşabilir!**



Molecular Characterization of Drug Resistance in Hepatitis B Viruses Isolated from Patients with Chronic Infection in Turkey

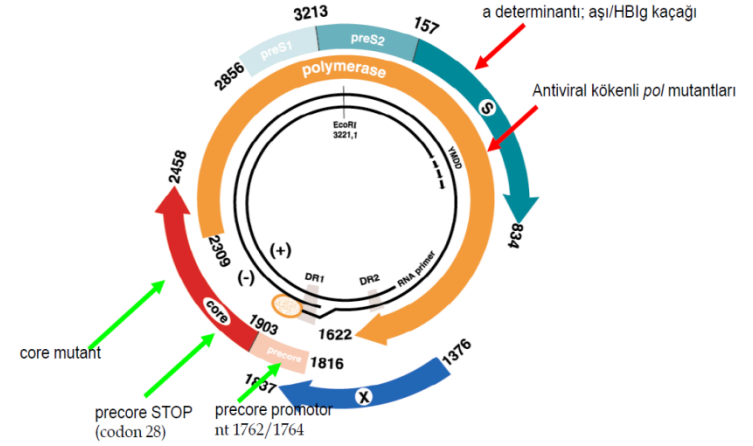
Ali Asan,^{1*} Murat Sayan,^{2,3} Sila Akhan,⁴ Suda Tekin Koruk,⁵ Bilgehan Aygen,⁶ Fatma Sirmatel,⁷ Haluk Eraksoy,⁸ Nazan Tuna,⁹ Sukran Köse,¹⁰ Ali Kaya,¹¹ Necla Eren Tulek,¹² Nazlim Aktug Demir,¹³ Resit Mistik,¹⁴ Bahar Ormen,¹⁵ Fatime Korkmaz,¹⁶ Taner Yildirmak,¹⁷ Onur Ural,¹⁸ Mehtap Aydin,¹⁸ Huseyin Turgut,¹⁹ Ozgur Gunal,²⁰ and Nese Demirturk²¹

Table 3. Typical HBsAg Escape Amino Acid Substitutions of the Study Patients

HBsAg Amino Acid Substitution Category	Mutation Pattern	Patient No. (%)		Combined Pattern	Number of Patients	PValue
		Naive	Experienced			
HBVg escape	sT118A, sP120T, sT123A, sQ129R, sM133L, sY134N, sD144E, sG145K	23 (8.4)	21 (8.2)	sT123A + sG145K	2 ^a	0.89
Vaccine escape	sP120S, sM133L, sS143L, sD144E, sG145R, sS193L	10 (3.7)	12 (4.6)			0.57
Hepatitis B misdiagnosis	sP120S/T, sR122K, sT131I, sM133T, sS143L	11 (4)	9 (3.5)			0.73
Immune - selected amino acid substitution	sQ101H/R, sI110L, sG119I/R, sP120T, T123A/N, sP127T, sG130K/R, sT131N, sT140I, sS143T, sD144E, sG145R	47 (17.3)	51 (19.8)	sS143T + sD144E + sG145R	1 ^a	0.46
				sI110L + sP120T	2 ^a	
				sQ101H + sI110L	1 ^a	
				sQ101H + sP127T	1 ^a	
				sQ101H + sI110L + P120T	1 ^a	
Total		91 (33.5)	93 (36.1)			

^aNumber of combined pattern patients included to the mutation pattern.

ADAPVEM (Antiviral Drug-Associated Potential Vaccine-Escape Mutant)



- HBV genomunda **polimeraz (pol) gen** bölgesi ile **yüzey (S) gen** bölgesi üst üste çakışmaktadır
- Nükleoz(t)id Analoğu (NA) uzun süreli kullanımı sonrası pol gen bölgesinde ilaç direncine yol açan mutasyonlar gelişmekte
- NA direnç mutasyonları HBsAg yapısında aa değişikliğine yol açmakta ve **ilaca bağlı gelişen potansiyel aşı kaçağı mutasyonları (ADAPVEM)** gelişmekte
- Sayan M. ve ark. Türkiye' de 422 KHB'li hastada **ADAPVEM %10**, NA tedavisi alan grup içinde **%24**, tedavi almayan grupta ise **%0.7** tespit etmişlerdir



Molecular Characterization of Drug Resistance in Hepatitis B Viruses Isolated from Patients with Chronical Infection in Turkey

Ali Asan,^{1,*} Murat Sayan,^{2,3} Sila Akhan,⁴ Suda Tekin Koruk,⁵ Bilgehan Aygen,⁶ Fatma Sirmatel,⁷ Haluk Eraksoy,⁸ Nazan Tuna,⁹ Sukran Köse,¹⁰ Ali Kaya,¹¹ Necla Eren Tulek,¹² Nazlim Aktug Demir,¹³ Resit Mistik,¹⁴ Bahar Ormen,¹⁵ Fatime Korkmaz,¹⁶ Taner Yildirmak,¹⁷ Onur Ural,¹⁸ Mehtap Aydin,¹⁸ Huseyin Turgut,¹⁹ Ozgur Gunal,²⁰ and Nese Demirturk²¹

Table 4. ADAPVEM according to nucleos(t)ide analogues in treatment naive and experienced patients

Mutation Characteristic	Mutation Pattern	Nucleos(t)ide Analogue	Patient, N (%)		P Value
			Treatment - Naive	Treatment - Experienced	
ADAPVEM N = 28 ^a (5.3)	sF161I/rtI169X	ETV	1	-	0.03
	sE164D/rtV173L + sS195M/rtM204V	LAM, LdT	-	3	
	rtA181T/sL172L	ADV	-	1	
	rtA181V/sL173F	ADV	-	3	
	sS195M/rtM204V	LAM, LdT	4	7	
	sS196L/rtM204I	LAM, LdT	3	6	
Total			8 (2.9)	20 (7.7)	

Abbreviation: ADAPVEM, antiviral drug - associated potential vaccine - escape mutant; ADV, adefovir; LAM, lamivudine; LdT, telbivudine.

^aSome of the patients had multiple mutations, however the percentage of mutation was calculated for 28 patients.

HBsAg ve Anti-HBs birlikte pozitifliği

- HBsAg- antiHBs serokonversiyonu sırasında oluşan **immün komplekslerin çözülmesi** ile kısa süreli ortaya çıkabilir
- **Heterolog subtipler** gelişen infeksiyonlara karşı gelişen antikor yanıtı
- **İmmün yetmezlikli** hasta grubunda
- **Hemodiyaliz** hastalarında
- HBV'nin **S gen bölgesindeki mutasyonlar** sonucu mutant virusla ikinci kez infeksiyon
- **ADAPVEM**
- **OHB de HBV reaktivasyonu**
- Yalancı pozitiflik
- %3.1-36 arasında bildirilmiş
- Türkiye'den 2016'da Aydın N ve ark. çalışmasında 592 hastada HBV serolojisi bakmışlar HBsAg ve anti-HBs birlikte pozitifliği %3.6 bulmuşlar

İzole HBsAg pozitifliği

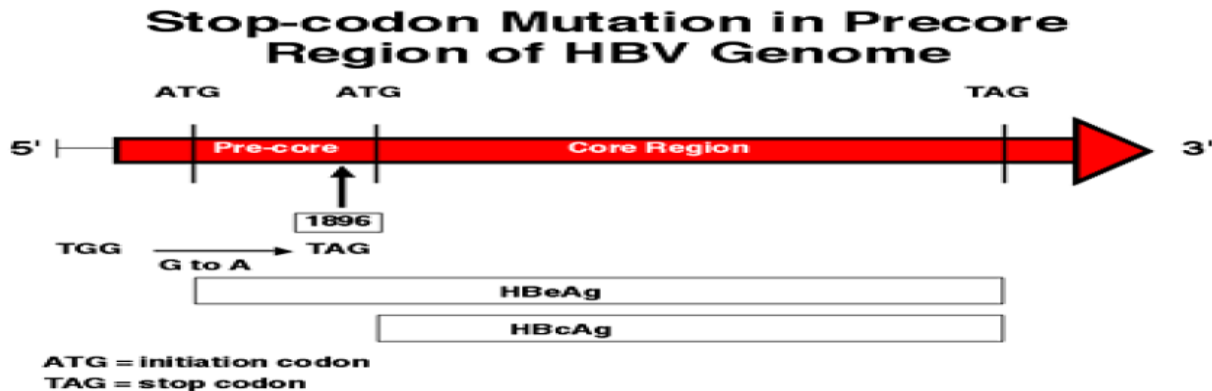
- Akut HBV infeksiyonunun erken dönemi (ilk 3-5hafta)
- HBV varyantının varlığı
- Anti-HBc antikorlarının oluşumunu engelleyen immün defektin varlığı
- Hepatit aşılamasından sonraki ilk 18 gün içinde
- Kite bağlı yalancı pozitiflik

İzole anti-HBs pozitifliği

- Aşılama
- Hiperimmünoglobulin
- Kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu
- Anneden bebeğe pasif antikor geçişı

HBeAg ve Anti-HBe birlikte pozitifliği

- Akut HBV'de kısa süreli de olsa HbeAg ve Anti-HBe birlikte pozitif saptanabilir. HBeAg'nin azalmaya, anti-HBe'nin artmaya başladığı bir dönemde bu profilin görülebilir
- HBe Ag üretimini bozan mutasyonlar olan **prekor ve/veya bazal kor promoter mutasyonları** HBeAg üretimini azaltmış olabilir
- Vahşi ve mutant virüsle eş zamanlı infeksiyonlar
- HBeAg ve anti-HBe immün komplekslerinin test koşullarında disosiye olarak ayrı ayrı saptanması
- HBeAg pozitif kabul edilebilir ancak HBe durumundaki deđişikliđi görmek için 3 ay içinde test tekrar edilmelidir.



HBeAg ve Anti-HBe birlikte negatifliği

- Çok sık görülmemekle birlikte genellikle tedavi sırasında HBeAg serokonversiyonu sırasında görülür
- Serokonversiyon veya yeniden HBeAg ortaya çıkışı ile sonuçlanır

Anti-HBc negatifliği

- Akut HBV İnfeksiyonun erken dönemi
- Yalancı negatiflik (test kitlerinin farklı duyarlılıkları)
- Örnek kontaminasyonu
- HBcAg ye karşı immun tolerans,
- Spesifik T hücre sayısında yetersizlik
- Vertikal bulaş sonrası intrauterin infeksiyon ilişkili durum
- Anti-HBc üretimini engelleyen HBV mutantları ile infeksiyon
- İmmünsüpresyon (HIV, transplantasyon, KT, lösemi, KBY, KDH)
- İmmün kompleks oluşumu (HBcAg-Anti-HBc)

SONUÇ

HBsAg	HBeAg	Anti-HBc	Anti-HBe	Anti-HBs	HBVDNA (IU/mL)	TANI
+	+	-	-	-	+	Akut infeksiyon erken dönem
+	+	IgM	-	-	+	Akut infeksiyon
-	-	IgM±IgG	-	-	+/-	Akut infeksiyon (Pencere dönemi)
-	-	IgG	+/-	+	-	Doğal infeksiyona karşı bağışıklık
-	-	-	-	+	-	Aşıya bağlı bağışıklık
+	-	IgG	+	-	<2000 (ALT N)	HBeAg (-) kronik infeksiyon (inaktif taşıyıcılık)
+	+	IgG	-	-	>10 ⁷ (ALT N)	HBeAg(+) Kronik infeksiyon (immun toleran)
					10 ⁴⁻⁷ (ALT>N)	HBeAg (+) Kronik hepatit (immun reaktif)
+	-	IgG	+	-	>2000 (ALT>N)	HBeAg (-) Kronik hepatit
-	-	IgG	-	-		İzole anti-HBc pozitifliği

Atipik serolojik profille karşılaşıldığında;

- **Hastanın risk değerlendirmesi ve fizik bakışı**

(epidemiyolojik özellikler, yaş, aile öyküsü, komorbid hastalıklar, transfüzyon, operasyon öyküsü, madde kullanımı)

- **Test tekrarı**

- **HBV DNA**

- **Biyokimyasal testler** (hemogram, ALT, AST, bilirubin, albumin, globulin koagülasyon vd.)

- **Görüntüleme** (transient elastografi, USG vd)

- **Noninvaziv markerler / Histopatolojik değerlendirme**

- Hastanın izlemi...



TEŞEKKÜRLER...