

KAN VERİCİLERİNDE HEPATİT G VİRUS PREVALANSI

PREVALENCE OF HEPATITIS G VIRUS IN BLOOD DONORS

Selçuk KAYA

Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN

Mustafa DEMİRCİ

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta

Anahtar Sözcükler: Hepatit G virus (HGV), kan vericileri, prevalans

Keywords: Hepatitis G virus (HGV), blood donors, prevalence

Geliş: 07 Mayıs 2004

Kabul: 08 Haziran 2004

ÖZET

GB virus C/hepatit G virus (GBV-C/HGV) hepatit yaptığı düşünülen, yeni bulunmuş bir flavivirusdur. Bu çalışmanın amacı, kan vericilerinde HGV prevalansını saptamak idi. Bu amaçla, Isparta bölgesi kan vericilerinde HGV-RNA ve geçirilmiş infeksiyon belirtici olan E2 zarf proteinine karşı oluşmuş antikorlar araştırıldı. Çalışma grubu, Nisan 2001–Temmuz 2001 tarihlerinde 60 kan vericisinden oluşturuldu. Serum örnekleri real time polimeraz zincir reaksiyonu ile HGV-RNA ve ticari enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ile HGV E2 antikorlarının varlığı için test edildi. Kan vericilerinin serumlarında GBV-C/HGV RNA %1.66 ve HGV E2 antikorları %6.66 olarak saptandı. Sonuç olarak, kan transfüzyon öyküsü olmamasına rağmen, bölgedeki kan vericilerinde geçirilmiş ve geçirilmekte olan infeksiyon (viremi ve/veya HGV antikor) belirteçleri yüksek oranlarda (%8.33) bulundu. Bundan dolayı, sonuçlar HGV infeksiyonunun sadece kan verme ile değil, ayrıca aile içi ilişki, cinsel yolla geçiş gibi diğer bulaşma yollarından da olabileceğini desteklemektedir.

SUMMARY

GB virus C/hepatitis G virus (GBV-C/HGV) is a recently discovered Flavivirus, considered to be a cause of hepatitis. The purpose of this study was to determine the prevalence of HGV in blood donors in Isparta, a Mediterranean city of Turkey. The prevalence of HGV-RNA and antibodies to the envelope 2 antigen (anti-E2), a marker of past infection, in blood donors were investigated. The study group consisted of 60 blood donors in the April 2001–July 2001 period. Serum samples were tested for the presence of HGV-RNA by real time polymerase chain reaction (PCR) and for anti-E2 by a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). GBV-C/HGV RNA was present in the sera from 1.66% of the blood donors, and anti-HGV E2 antibodies could be detected in 6.66% of the samples. In conclusion, the percentage of previous or current infection (viremia and/or antibody to E2) was detected as 8.33% in blood donors, indicating that GBV-C/HGV infection appears to be common among blood donors in the region even in the absence of blood transfusion. Thus, the results support that HGV is transmissible not only by blood transfusion, but probably also by other transmission routes such as sexual and intrafamilial contact.

GİRİŞ

Hepatit C virusu (HCV)'nin 1989'da klonlanmasından sonra transfüzyon sonrası hepatit olgularının %90'ından fazlası hepatit A-E olarak açıklanmıştır (1). Ancak 1995/1996 yıllarında iki bağımsız virus araştırma grubu tarafından GB virus C (GBV-C) ve hepatit G virusu

(HGV) adı verilen yeni hepatit virusları bulunduğ bildirilmiştir. Bu yeni iki virusun moleküler özellikleri karşılaştırıldığında aynı virusun farklı kökenleri olduğu anlaşılmıştır (2-4). Genomik olarak HCV'de benzeyen bu virus Flaviviridae familyasında sunulmuştur (5).

GBV-C/HGV'nin transfüzyon sonrası akut veya kronik hepatit ve hatta fulminan hepatit olgularında rapor edilmiş olmasına rağmen karaciğer hasarı yapmasındaki rolü tam olarak gösterilmemiştir (6). GBV-C/HGV'nin taşıyıcılığı uzun yıllar devam edebilmekte ve zamanla viral RNA serumdan temizlenebilmektedir. Bu sırada virus zarf protein E2'ye (envelope protein) karşı antikorlar (anti-E2) geliştirebilmektedir (7). Bu antikorların oluşması GBV-C/HGV enfeksiyonunda iyileşme bulgusu olarak yorumlanmıştır.

Virus farklı kan verici topluluklarında çeşitli prevalans oranları (%0.9'dan 14.6'ya kadar) ile dünya üzerine dağılmıştır (8-10). Epidemiyolojik veriler, akut veya kronik non A-E hepatitli hastalarda, hemodiyaliz hastalarında, HIV taşıyıcıları ile hemofili ve talesemi hastalarında, böbrek, karaciğer ve kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda HGV görülme sıklığının daha fazla olduğunu göstermektedir (9-12).

Bu çalışmanın amacı; Isparta il merkezi kan vericilerinde HGV sıklığının saptanıp Türkiye ve dünya üzerindeki dağılımını belirlemede yardımcı olmak ve bölgedeki bu virus için olası bulaş yollarını belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Serum örnekleri: Çalışma için kan örnekleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezi'ne Nisan 2001-Temmuz 2001 tarihleri arasında gönüllü olarak ilk kez kan vermek isteyen vericilerden alındı. Çalışma grubunu kan ve kan ürünü transfüzyon anamnezi, intravenöz ilaç kullanımı veya mesleki riski olmayan 60 kişi oluşturdu.

Kan vericilerinde Türkiye'de yasal olarak zorunlu tarama testleri olan; VDRL (Veneral Disease Research Laboratory) dışındaki, HBsAg, anti-HCV Ab, Anti HIV1-2 AxSYM (Abbott Laboratories-USA) aygıtında Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) yöntemiyle araştırıldı.

HGV-C/HGV RNA: RNA ekstraksiyonu: Total RNA 150 ml serumdan üretici firma talimatlarına uyularak NucleoSpin RNA Virus kiti (Macherey-Nagel, (Cat no: 740 956.250) (Düren-Almanya) kullanılarak yapıldı.

Real time PCR GBV-C/HGV RNA'nın 5'UTR bölgesinden primer ve prop kullanılarak çalışıldı. Forward primer; 5'- GTT GGT AGG TCG TAA ATC CCG GTC ATC TTG-3', revers primer; 3'- GGC TGC AGT CCG AAC AGC AAT TTG-5' ve Taq Man probe; 5'- CTC TAG CGC TTG TGG CGA GAA A-3'. PCR, EZ rTth RNA PCR kit (Perkin Elmer, Foster City CA, ABD) kullanılarak GeneAmp 5700

(Sequence Detector System, Perkin Elmer) aygıtı ile çalışıldı.

HGV/GBV-C antikor testi: Anti-HGV düzeyleri, HGV Ab EIA (Alpha Scientific, ABD) kiti kullanılarak üretici firma talimatlarına göre saptandı.

BULGULAR

Kan verici grubu, yaşları 20 ile 50 arasında değişen ve yaş ortalaması 34.70 (SD $\pm$ 7.86) olan, 59 erkek ve bir kadından oluştu.

Kan vericilerinden sadece bir kişide (% 1.66) HGV RNA pozitifliği saptandı. Hepatit G virus viremişi saptanan bu kişide, HGV antikorları ELISA ile saptanamadı. Kan vericilerinden dört kişide (%6.66) anti-HGV pozitifliği saptandı ve HGV antikorları saptanan bu kişilerde HGV viremişi saptanamadı. Sonuç olarak, kan vericilerinde HGV ile karşılaşma (HGV RNA pozitifliği + anti HGV ELISA pozitifliği) oranı %8.33 olarak bulundu.

TARTIŞMA

Hepatit G virus RNA kaybolmasından sonra pozitifleşen ve viral klirensin bir göstergesi olduğu kabul edilen HGV zarf proteinlerine karşı oluşmuş antikorlar gözardı edilirse, HGV'nin akut veya geçirilmekte olan enfeksiyonunu gösterecek ne bir antijen ne de virusa karşı oluşmuş antikorun saptanamaması, HGV için yapılan epidemiyolojik çalışmaların hepsini PCR ile HGV RNA'nın saptanmasına bağımlı kılmıştır (8). PCR bazlı yöntemlerin de antikor veya antijen saptayan yöntemlere göre daha zahmetli, pahalı ve uygulamasının zor olması gibi dezavantajlarından dolayı, geniş çaplı epidemiyolojik çalışmaların yapılmasında problem oluşturmuştur. Polimeraz zincir reaksiyonu ile HGV RNA, virusla karşılaşmayı göstermesi yerine, viral persistans belirleyicisi olduğundan epidemiyolojik çalışmalarda sıkıntı oluşturmaktadır (9,13). Hepatit G virus için duyarlı ve özgül antijen veya antikor ile ilgili yöntemlerin geliştirilmesine kadar, güvenilir epidemiyolojik çalışmalar için HGV RNA yanında ELISA ile HGV anti E2 antikorlarının bakılmasının uygun olduğu düşünülmüştür. Hepatit G virus RNA ile anti E2 antikorlarının birlikte bakıldığı epidemiyolojik çalışmalarda hem geçirilmekte olan hem de geçirilmiş enfeksiyonlar ortaya konulmuş olacaktır.

Bu çalışmada, Isparta bölgesi kan vericilerinde HGV için vireminin bulgusu olan HGV RNA pozitifliği %1.66 saptandı. Kan vericilerine ilişkin olarak İstanbul'dan %2 ve İzmir'den %1 (14) Sansun'dan %2 (15) oranlarının bildirilmesi, Türkiye'deki kan vericilerinde HGV RNA

pozitiflik oranının % 1-2 arasında değiştiğini ortaya koymaktadır. Yurt dışında kan vericilerinde yapılan taramalarda; %1-2,5 arasında değişen oranlara bu çalışmanın bulguları benzerdir (8, 9, 16, 17). Kan vericilerinde farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda çok düşük olduğu gibi çok yüksek HGV viremi oranları da bildirilmiştir. Bunlar; Avustralya'da % 1-4, Norveç'te %2.5, İspanya ve Fransa'da %3-4.2, İtalya'da % 4.4, Brezilya'da % 5.2, Myanmar %11 ve Bolivya'da % 14.6 gibi çeşitlilik göstermektedir (16-21). Bu farklı ülkelerdeki çeşitli HGV viremi oranları, çalışma kapsamına alınan grupların farklı sosyo-ekonomik ve kültürel toplumlardan köken almaları ile açıklanabileceği gibi, virusun farklı bölgelerde farklı dağılımlar gösterdiğinin bulgusu da olabilir. Değişik kültürel düzeydeki kişilerde olan farklı seropozitiflik oranlarının göstergesi olarak, gönüllü kan vericilerinde HGV RNA oranları Hindistan'da %4, Çin'de %0.7 iken, profesyonel vericilerde ise Hindistan'da %46.7 ve Çin'de %7.9 olarak bildirilmiştir (22). Yine İtalya'da yapılan bir çalışmada, HGV RNA/anti-E2 pozitifliğine bakarak HGV insidansını yılda %1.7 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışma grubu, bir ünite kanda enfeksiyon riskini %0.053 olarak hesaplamışlardır ve bu enfeksiyon riski oranının Tayvan'da bildirilen oranlardan 10 kat daha düşük olduğunu vurgulamışlardır (23).

Bu çalışmada kan vericilerinde geçirilmiş HGV enfeksiyonunun bulgusu olan anti-HGV pozitifliği ELISA ile %6.66 olarak saptandı. Yazarların bilgilerine göre, Türkiye için anti-HGV pozitifliği ile ilgili ilk veridir. Kan vericilerinde yapılan farklı çalışmalarda anti-HGV oranları, Japonya'da %2.5, İtalya'da %5-8.8, Almanya'da %9, Norveç'te 10.5, Fransa'da %14.9 ve Polonya'da %24.2 olarak bildirilmiştir (16-23). Yine sağlıklı kişilerde de Avusturya'da %13 (24) ve İtalya'da %15.6 (25) gibi farklı oranlarda anti-HGV pozitifliği bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde sağlıklı çocuk ve genç yaş gruplarında yapılan bir çalışmada, HGV anti-E2 pozitiflik oranlarını %9.4 ola-

rak bildirmişlerdir (26). Kan vericileri ve sağlıklı gruplarda yapılan çalışmalarda HGV anti-E2 oranları %2.5 ile 24.2 arasında değişirken hemodiyaliz, talasemi, hemofili gibi parenteral girişimlere maruz kalan hasta gruplarında bu oranların %10.5 ile 32 arasında değiştiği bildirilmiştir (9, 16, 25-28). Hatta Hollanda'da yapılan bir çalışmada, 50 yaş üstü hemofili hastalarında HGV anti-E2 pozitiflik oranını %96 olarak bildirmeleri kan transfüzyonu ve parenteral girişimlerin, HGV'nin bulaş mekanizmasında ne kadar etkili olduğunu göstermektedir (8).

Hepatit G virusunun kan vericileri arasındaki prevalansının HCV'den yüksek olması ve HGV ile enfekte hastaların önemli bir bölümünde açık bir parenteral girişim anamnezinin olmaması, bulaşma için başka yolların olabileceğini düşündürmüştür. Cinsel yoldan ve anneden bebeğe intra-uterin geçiş gösterebileceği bildirilmiştir (11). Brezilya'da yapılan bir çalışmada, iki HGV enfeksiyonlu hastanın aile içi transmisyonunu moleküler delillerle ortaya konulmuştur (21). Bu çalışmada ise HGV enfeksiyonlu hastaların aile bireyleri ekonomik ve sosyal zorluklardan dolayı araştırılamamıştır.

Hepatit G virus viremişi saptanan kişide, HGV antikorları ELISA ile saptanamadığı gibi HGV antikorları saptanan kişilerde de HGV viremişi saptanamadı. Hepatit G virus viremisinin kaybolması genellikle anti-E2 antikorlarının ortaya çıkması ile paraleldir ve bu antikorların re-enfeksiyona karşı koruyucu olabilecekleri düşünülmektedir (9, 27).

Sonuç olarak, kan transfüzyon öyküsü olmamasına rağmen, Isparta bölgesinin kan vericilerinde geçirilmiş ve geçirilmekte olan enfeksiyon (viremi ve/veya HGV antikor) belirteçleri yüksek oranlar da (%8.33) saptanmıştır.. Bundan dolayı, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, HGV enfeksiyonunun sadece kan yolu ile değil ayrıca, aile içi ilişki ve cinsel geçiş gibi diğer bulaşma yollarını da kullandığını desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Hwang SJ, Lu RH, Chan CY, Chang FY, Lee SD. Detection of antibodies to E2 protein of GB virus C/hepatitis G virus in patients with acute posttransfusion hepatitis. *J Med Virol* 1999; 57: 85-9.
2. Leary TP, Muerhoff AS, Simons JN, et al. Sequence and genomic organization of GBV-C: A novel member of the Flaviviridae associated with human non A-E hepatitis. *J Med Virol* 1996; 48: 60-7.
3. Simons JN, Pilot-Matias TJ, Leary TP, et al. Identification of two Flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1995; 95: 3401-5.
4. Chu CW, Hwang SJ, Luo JC, et al. Clinical, virological, immunological, and pathological significance of GB virus C/hepatitis G infection in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2001; 19: 225-36.
5. Forns X, Tan D, Alter HJ, Purcell RH, Bukh J. Evaluation of commercially available in house reverse transcription PCR assays for detection of hepatitis G virus or GB virus C. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2698-702.
6. Yu ML, Chuang WL, Dai CY, et al. GB virus C/hepatitis G virus infection in chronic hepatitis C patients with and without interferon- α therapy. *Antiviral Research* 2001; 52: 241-9.

7. **Xiang J, Klinzman D, Mc Linden J, et al.** Characterization of Hepatitis G virus (GB-C Virus) particles: Evidence for a nucleocapsid and expression of sequences upstream of the E1 protein. *J Virol* **1998**; 72: 2738-44.
8. **Mausser-Bunschoten EP, Damen M, Zaaijer HL, et al.** Hepatitis G virus RNA and hepatitis G virus-E2 antibodies in Dutch hemophilia patients in relation to transfusion history. *Blood* **1998**; 92: 2164-8.
9. **Tacke M, Kiyosawa K, Strak K, et al.** Detection of antibodies to a putative hepatitis G virus envelope protein. *Lancet* **1997**; 349: 318-20.
10. **Masuko K, Mitsui T, Iwano K, et al.** Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* **1996**; 334: 1485-90. http://www.bloodjournal.org/cgi/external_ref?access_num=8618602&link_type=MED
11. **Stark K, Bienzie U, Hess G, Engel AM, Hegenscheid B, Schlüter V.** Detection of hepatitis G virus genome among injecting drug users, homosexual and bisexual men, and blood donors. *J Infect Dis* **1996**; 174:1320-3. http://www.bloodjournal.org/cgi/external_ref?access_num=8940225&link_type=MED
12. **Jarvis LM, Davidson F, Hanley JP, Yap PL, Ludlam CA, Simmonds P.** Infection with hepatitis G virus among recipients of plasma products. *Lancet* **1996**; 348: 1352 http://www.bloodjournal.org/cgi/external_ref?access_num=8918279&link_type=MED
13. **Belyaev AS, Chong S, Novikov A, et al.** Hepatitis G virus encodes protease activities which can effect processing of the virus putative nonstructural proteins. *J Virol* **1998**; 72: 868-72.
14. **Erensoy S.** Hepatit etiyolojisinde sorgulanan yeni viruslar. Kılıçturgay K, Badur S, ed. *Viral Hepatit 2001*'de. Ankara: Viral Hepatit Savaşım Derneği, **2001**: 259-73.
15. **Pekbay A.** Hepatit G virusu. *Mikrobiyol Bült* **1999**; 33: 63-74.
16. **Alter HJ.** Hepatitis G virus and TT virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **2000**: 1760-5.
17. **Wilber JC.** Hepatitis C and G viruses. In: Murray PR, Baron EJO, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington, DC: ASM Press, **1999**: 1043-52.
18. **Nordbo SA, Krokstad S, Winge P, Skjeldstad FE, Dalen AB.** Prevalance of GB virus C (also called Hepatitis G virus) markers in Norwegian blood donors. *J Clin Microbiol* **2000**; 38: 2584-90.
19. **Cesaire R, Martial J, Maier H, et al.** Infection with GB virus C/hepatitis G virus among blood donors and hemophiliacs in Martinique, a Caribbean Island. *J Med Virol* **1999**; 59: 160-3.
20. **Konomi N, Miyoshi C, La Fuente Zerain C, Li TC, Arakawa Y, Abe K.** Epidemiology of Hepatitis B, C, E and G virus infections and molecular analysis of hepatitis G virus isolates in Bolivia. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 3291-5.
21. **Pinho JRR, Zanotto PM, Ferreira JP, et al.** High prevalence of GB virus C in Brazil and molecular evidence for intrafamilial transmission. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 1634-7.
22. **Kar P, Bedi P, Berry N, et al.** Hepatitis G virus (HGV) infection in voluntary and commercial blood donors in India. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2000**; 38: 7-10.
23. **Prati D, Zanella A, Bosoni P, et al.** The incidence and natural course of transfusion-associated GB Virus C/Hepatitis G Virus infection in a cohort of thalassemic patients. *Blood* **1998**; 91: 774-7.
24. **Tribl B, Schöniger M, Petermann D, et al.** Prevalance of GBV-C/HGV-RNA, virus genotypes, and Anti-E2 antibodies in autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterol* **1999**; 94: 3336-40.
25. **Romano L, Fabris P, Tanzi E, et al.** GBV-C/hepatitis G virus in acute non A-E hepatitis and in acute hepatitis of defined aetiology in Italy. *J Med Virol* **2000**; 61: 59-64.
26. **Handa A, Jubran RF, Dickstein B, et al.** GB virus C/Hepatitis G virus infection is frequent in American children and young adults. *Clin Infect Dis* **2000**; 30: 569-71.
27. **Hassoba HM, Terrault NA, El-Gohary AM, et al.** Antibody to GBV-C second envelope glycoprotein (anti-GBV-C E2): is it a marker for immunity? *J Med Virol* **1997**; 53: 354-60.
28. **Lampe E, Saback FL, Viazov S, Roggendorf M, Niel C.** Age-specific prevalence and genetic diversity of GBV-C/hepatitis G virus in Brazil. *J Med Virol* **1998**; 56: 39-43.

İLETİŞİM

Dr. Selçuk KAYA
İstanbul Cad. No: 52 Kat: 4/14
32200 İSPARTA
e-posta: selcukkayadr@hotmail.com