

## HBsAg ve Anti-HBs NEGATİF, Anti-HBc POZİTİF OLGULARIN ÇEŞİTLİ YÖNLERDEN İNCELENMESİ

Ali Mert\*, Hakan Şentürk\*, İbrahim Süve\*, Fehmi Tabak\*, Meral Akdoğan\*, Erdal Kurtoğlu\*, Recep Öztürk\*\*, Yıldırım Aktuğlu\*

### ÖZET

Hepatit B virus (HBV) serolojisinde olağan dışı bir profil olan HBsAg ve anti-HBs negatif, anti-HBc pozitifliğinin hem klinik hem de terminolojik anlamı tartışmalıdır. Bu çalışmada, Ocak 1995-Ağustos 1996 arasında riskli gruplarda aşılama amaçlı yapılan HBV taramalarında karşılaştığımız HBsAg/anti-HBs negatif ve anti-HBc pozitif bulunup karaciğer enzimleri normal 46 olgu (20 kadın, 26 erkek, ortalama yaş: 34±14, yaş aralığı: 1.5-63) çeşitli yönleriyle incelenmiştir. Tümünde anti-HCV, HBeAg ve anti-HBe, 28/46'ında HBV-DNA çalışılmıştır. 23 olguya rekombinant HBV aşısı (Hepavax Gene 20 µg, 0-1-6. aylarda) uygulanmış ve son aşidan 1 ay sonra antikor titreleri ölçülmüştür. HBV göstergeleri ELISA, anti-HCV antikorları 2.kuşak ELISA, HBV-DNA nested PCR ile çalışılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Olguların hiçbirisinde anti-HCV bulunmazken, %52'sinde (24/46) HBeAg ve anti-HBe negatifliğine, %48'inde (22/46) anti-HBe pozitifliğine rastlanmıştır. HBV-DNA, bakılan kişilerin %28'inde (8/28) saptanmıştır. Aşılama olgularının %78'inde (18/23) antikor oluşumu (250±197 IU/L). Bunların %35'i (8/23) anti-HBe pozitif, %65'i (15/23) ise HBeAg ve anti-HBe negatif olanlardı. İlginç olarak %26'sı (6/23) HBV-DNA pozitif idi. Ortalama antikor titreleri yönünden HBV-DNA pozitif grup ile HBV-DNA negatif grup arasında (246±225 vs 170±180), HBeAg/anti-HBe negatif grup ile anti-HBeAg pozitif grup arasında (201±210 vs 184±198) fark saptanmadı. Sonuç olarak, HBsAg/anti-HBs negatif ve anti-HBc pozitif olguların önemli bir kısmında anti-HBe antikorlarının, bir kısmında da HBV-DNA'nın pozitif olduğu saptanmıştır. Aşıya, HBV-DNA pozitif olguların bile önemli bir kısmında yanıt alınmasının, bu olağan dışı serolojik profilin büyük ölçüde titre edilemeyen bağışıklığı yansıttığı düşünülmüştür.

### SUMMARY

#### EVALUATION OF VARIOUS ASPECTS OF HBsAg AND Anti-HBs NEGATIVE, Anti-HBc POSITIVE CASES

Clinical and terminological aspects of an unusual profile of hepatitis B virus (HBV) serology consisting of HBsAg and anti-HBs negativity on the face of anti-HBc positivity is subject to discussion. In this study, 46 (20 women, 26 men, mean age: 34±15, age interval: 1.5-63) cases which were HBsAg, anti-HBs and anti-HBc IgM negative but anti-HBc positive with normal liver enzymes, encountered during screening of high risk groups for vaccination between January 1995 and August 1996, were searched for various clinical aspects. All cases were tested for anti-HCV, HBeAg and anti-HBe whereas HBV-DNA was studied in only 28 cases. Half of the cases (23 cases) were vaccinated by recombinant HBV vaccine (Hepavax Gene 20 µg, months 0-1-6) and antibody titers were measured after one month following the last dose. HBV markers, anti-HCV antibodies and HBV-DNA were tested by ELISA, second-generation ELISA and nested PCR, respectively. Mann Whitney U test was used for statistical analysis. Anti-HCV antibodies were negative in all cases. HBeAg and anti-HBe were negative in 52% of cases (24/46) whereas anti-HBe was positive in 48% of cases (22/46). HBV-DNA was present in only 28% of cases (8/28). Seventy-eight percent of vaccinated cases presented antibody formation (250±197 IU/L). HBV-DNA positivity, anti-HBe positivity and both HBeAg and anti-HBe negativity of vaccinated cases were 26% (6/23) (five of them developed antibody), 35% (8/23) and 65% (15/23), respectively. There was no difference of mean antibody titers between HBV-DNA positive and negative groups (246±225 versus 170±180) and between HBeAg/anti-HBe negative and anti-HBe positive groups (201±210 versus 184±198). As a result, it was stated that anti-HBe was positive in moderate amount of HBsAg/anti-HBs negative and anti-HBc positive cases whereas HBV-DNA was positive in only small amount of them. It was thought that unresponsiveness of vaccinated HBV-DNA positive cases possessing this unusual serologic profile reflects unquantifiable immunity.

### GİRİŞ

Çoğunlukla risk gruplarında aşılama amaçlı yaptığımız hepatit B virusu (HBV) taramalarında HBsAg, anti-HBs ve anti-HBc olmak üzere 3 serolojik gösterge istenmektedir. Dört olası sonuçla

karşılaşmaktayız; (1) 3 göstergenin de negatif olduğu grup (bu grup aşılama amaçlıdır), (2) anti-HBs pozitif grup (bu grup HBV'ne karşı bağışıklıdır), (3) HBsAg pozitif grup (bu grup taşıyıcılık veya kronik karaciğer hastalığı yönünden araştırılmalıdır ve ayrıca aile bireyleri taranmalıdır) ve (4) alışılabilir-

III. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumunun (7-9 Kasım 1996, Ankara)'da sunulmuştur.

\* İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları ABD

\*\* İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD

mişin dışında serolojik profillerin yer aldığı grup. Çalışmamızın konusu olan HBsAg/anti-HBs negatif ve anti-HBc pozitifliği 4.grup içinde yer almaktadır. Klinik ve terminolojik anlamı tartışmalı olan bu serolojik profilde; ya HBeAg ve anti-HBe negatif (bu durum izole anti-HBc pozitifliği olarak isimlendirilir) ya da HBeAg negatif, anti-HBe pozitif (bu durumun özel bir ismi yoktur). Çeşitli nedenlerden kaynaklanmış olabilen izole anti-HBc pozitifliği ile ilgili birçok çalışmaya rastlamamıza karşın (1-4), HBsAg/ anti-HBs negatif ve anti-HBc pozitif olağan dışı serolojik profili olup transaminazları normal olanları çeşitli yönleriyle inceleyen bir çalışmaya rastlayamadık. Bu özellikleri olan 46 olguyu çeşitli yönleriyle inceledik.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak 1995-Ağustos 1996 arasında riskli gruplarda aşılama amaçlı yapılan HBV taramalarında karşılaşılan ve kliniğimize gönderilen HBsAg/anti-HBs negatif ve anti-HBc pozitif 46 olgu alınmıştır. Olguların büyük çoğunluğu İstanbul Büyükşehir Belediyesi Sağlık Daire Başkanlığı tarafından, İstanbul'da yaşayanlar arasında ELISA yöntemiyle yapılan Hepatit-B taramasında saptanmış olgulardır. Tüm bu olguların HBV göstergeleri hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında tekrarlanmış ve serolojisi doğrulanan olgulardan karaciğer fonksiyon testleri normal ve anti-HBc IgM'leri negatif olanlar çalışmaya alınmıştır. Tüm olgular HBV enfeksiyonu risk faktörleri yönünden soruşturulmuştur. Tümünde anti-HCV, HBeAg ve anti-HBe, 28'inde HBV-DNA araştırılmıştır. Yarısına (23/46) HBeAg ve HBV-DNA durumu göz önüne alınmaksızın rekombinant HBV aşısı (Hepavax Gene 20 µg, 0-1-6 aylarda deltoid kası içine) uygulanmış ve son aşıdan 1 ay sonra antikor titreleri ölçülmüştür. Titre 10 IU/L ve üzerinde ise pozitif kabul edilmiştir.

HBV göstergeleri ELISA, anti-HCV antikorları 2.kuşak ELISA, HBV-DNA nested PCR ile çalışılmıştır. İstatistiki değerlendirmede Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

### BULGULAR

Olgularımızın 20'si (%43) kadın, 26'sı (%57) erkek olup ortalama yaş  $34 \pm 14$  (1.5 -63) yıl bulunmuştur. Risk faktörleri yönünden, olguların %17'si (8/46) geçmişinde tipini bilmediği sarılık geçirdiğini, %26'sı (12/46) ailesinde sarılık geçirenlerin bu-

lunduğunu (2 eş HBV taşıyıcısı, 1 çocuk B tipi kronik hepatit), %74'ü (34/46) geçmişinde diş tedavisi gördüğünü, %24'ü (11/46) ameliyat geçirdiğini ve %15'i (7/46)'de sağlık personeli olduğunu bildirmiştir. Anti-HCV antikorları tüm olgularda negatif bulunmuştur. Olguların %52'sinde (24/46) HBeAg ve anti-HBe negatifliğine (izole anti-HBc pozitifliği), %48'inde (22/46) anti-HBe pozitifliğine, %28'inde (8/28) HBV-DNA pozitifliğine rastlanmıştır. Aşılama olguların %78'inde (18/23) koruyucu antikor titresi elde edilmiştir. (Ortalama anti-HBs:  $250 \pm 197$  IU/L). Aşılama olguların %35'i (8/23) anti-HBe pozitif, %65'i (15/23) ise HBeAg ve anti-HBe negatif olanlardı. Bunların % 26(6/23)'sında HBV-DNA pozitif bulunmuştu(5/6'sında antikor oluşmuştur). Ortalama antikor titreleri yönünden HBV-DNA pozitif ile negatif gruplar arasında ( $246 \pm 225$  vs.  $170 \pm 180$ ), ve HBeAg/anti-HBe negatif ile anti-HBeAg pozitif gruplar arasında ( $201 \pm 210$  vs.  $184 \pm 198$ ) fark saptanmamıştır.

### TARTIŞMA

HBV enfeksiyonunda diğer serolojik göstergeler olmaksızın anti-HBc'nin tek başına saptanması izole anti-HBc pozitifliği olarak isimlendirilmektedir ve tanısal bir karışıklığa yol açmaktadır. Bu durumda çeşitli olasılıklar söz konusu olabilir(1-4); (1)olguların %1-2'sinde tanısal sistemlerden kaynaklanan yalancı pozitiflik, (2) akut HBV enfeksiyonlarında HBsAg kaybolup, anti-HBs'nin henüz oluşmaması (boşluk dönemi-window period), (3) HBsAg'nin saptanamayacak düzeyde var olduğu kronik HBV enfeksiyonları, (4) HBV antijenlerine karşı genetik olarak hümmoral yanıtta bir bozukluk nedeniyle diğer antikorların oluşmaması, (5) anti-HBs'nin zaman içinde kaybolması, (6) immünsüprese hastaların (özellikle diyabetikler ve üremikler) sıklıkla anti-HBs oluşturamaması, (7) HBcAg ile antijenik determinantları paylaşan virüslerle (HCV gibi) oluşan enfeksiyonlar ve (8) anti-HBc antikorlarının anneden bebeğe yada kan transfüzyonu sonucu pasif olarak aktarılmış olması.

İzole anti-HBc pozitifliği ender görülen bir durum değildir. Yapılan taramalarda bu oran %3 ile %11.9 arasında bildirilmiştir (3-7). Yaptığımız taramalarda kronik asemptomatik HBsAg taşıyıcılarının, kronik B hepatitlilerin, izole anti-HBc pozitiflerin aile bireylerinde ve kronik C hepatitlerinde izole anti-HBc pozitifliği sırasıyla %3 (11/365), %7.3 (5/68), %11 (8/72) ve %10.6 (13/122) oranlarında bulunmuştur.

Çalışmaya aldığımız 46 HBsAg/anti-HBs negatif ve anti-HBc pozitif olgunun 24'ünde (%52) HBeAg ve anti-HBe negatif saptanmıştır (izole anti-HBc pozitif grup). İzole anti-HBc pozitifliği tanısı alan bu kişilerde, aynı testin hastanemizin mikrobiyoloji laboratuvarında da tekrarlanmış olmasının yalancı pozitiflik oranını düşürdüğü kanaatındayız.

Olguların serum transaminaz düzeylerinin normal ve anti-HBc IgM'lerinin negatif olması akut HBV enfeksiyonunun pencere dönemi olasılığını dışlamaktadır.

Serumda HBsAg saptanamayan ancak kronik HBV taşıyıcısı olanlarda da izole anti-HBc pozitifliğine rastlanıldığı bildirilmektedir ve bunun göstergesi olarak genellikle serumda HBV-DNA'nın bulunması (hem PCR hem de hibridizasyon yöntemiyle) alınmaktadır (8,9). Ancak bizim çalışmamızda nested PCR ile HBV-DNA saptanan 6 olgunun 5'inde aşılama ile koruyucu antikor titresi elde edilmiştir. Ülkemizde yapılan izole anti-HBc pozitif olgularda HBV aşısı uygulaması isimli 2 ayrı çalışmada; hibridizasyon ile HDV-DNA'sı pozitifler çalışmaya alınmamıştır ve PCR ile HBV-DNA araştırılmamıştır (2,3). Aşıya yanıtız izole anti-HBc pozitif olgularda HBsAg'nın saptanamayacak düzeyde var olduğu kronik HBV enfeksiyonlarının söz konusu olabileceği ve bu nedenle hibridizasyonla HBV-DNA aranmaları gerektiği önerilmektedir (2,4). PCR çok duyarlı bir yöntem olduğundan işlevi olmayan (nonfonksiyonel) HBV-DNA kalıntılarını da gösterebilir. Yapılan bir çalışmada B tipi akut viral hepatit olgularının klinik, biyokimyasal ve serolojik olarak tam iyileşmesinden 5 yıl sonra bile serumda ve lökositlerde PCR ile HBV-DNA pozitif (hibridizasyon ile negatif olmasına karşın) bulunmuştur (10). Bu veriler ışığında, aşıya yanıt veren bu kişilerde, bağışıklık düzeyinin normalin alt sınırında olması nedeniyle, dolaşımda çok düşük düzeyde HBV-DNA bulunmasını sürpriz olarak karşılamamız gerekir düşüncesindeyiz.

HBV antijenlerine karşı genetik olarak hümorale yanıtta bir bozukluk olduğu durumlarda da izole anti-HBc pozitifliğine rastlanıldığı bildirilmektedir. (2,3). Ancak bizim hasta grubumuzdan 22 olgumuzda anti-HBe antikor pozitifliğinin olması bu olasılığı azaltmaktadır.

Anti-HBs'nin zaman içinde kaybolduğu durumlarda da izole anti-HBc pozitifliğine rastlanıldığı bildirilmektedir. Bu olgularda (immün olgular) 1.aşından sonra erken dönemde yüksek titrede anti-HBs yanıtı oluşmaktadır (anamnestik veya sekonder yanıt) (3,4).

Çalışmamızda 23 olgunun 2'sinde (%8.6) 1.aşından 15 gün sonra yüksek titrede (186 ve 213 IU/L) antikor yanıtı oluşmuştur. Antikor yanıtı 186 IU/L olan olgunun HBV-DNA'sı pozitif idi.

HBV enfeksiyonunun diğer virus enfeksiyonlarıyla (HCV, HIV gibi) birlikteliği HBV replikasyonunu azaltmaktadır (8). Bu gibi durumlarda izole anti-HBc pozitifliğine rastlanılmaktadır. Jilg ve ark. (8)'nin yaptığı bir çalışmada, izole anti-HBc pozitif olguların %40.5'inde (62/153) anti-HCV pozitifliğine (bunların 2/3'ünde HCV/RNA saptanmıştır), %14.3'ünde (16/112) ise anti-HIV pozitifliğine rastlanılmıştır. Ülkemizde Beşışık ve ark. (2)'nin, Sonsuz ve ark. (11)'nin yaptıkları çalışmalarda izole anti-HBc pozitif olgularda anti-HCV antikor pozitifliği sırasıyla %20 (5/20) ve %19.2 (5/26) olarak bildirilmiştir. Bu iki çalışmanın aksine olgularımızın hiçbirinde anti-HCV pozitifliğine (0/46) rastlanmamıştır.

İzole anti-HBc pozitifliği saptanan olguların önemi nedir; bunlar aşılmalı mıdır? Bu sorulara yanıt arayan çalışmaların sonuçları, anti-HBc pozitif olguların aşılınmalarının uygun olduğunu göstermektedir (1-4). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, izole anti-HBc pozitifliği gösteren 20 olgu aşılanmış ve bunların %75'inde, üçüncü doz sonunda anti-HBs oluştuğu ve bunların tümünde başlangıçta hibridizasyon ile bakılan HBV-DNA'nın negatif olduğu bildirilmiştir (2). İzole anti-HBc pozitifliğinde HBV aşısına yanıtı araştıran ve yurdumuzda yapılan başka bir çalışmada (3); serum transaminazları normal, serum HBV-DNA'sı negatif (hibridizasyon ile) 38 olgudan 19'unda (%50) 15. ve 30. günlerde geometrik ortalamaları sırasıyla 4386.74 IU/L ve 1666.79 IU/L\*olan anti-HBs yanıtı alındığı bildirilmiştir (sekonder yanıt). İki ortalama arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Tek doz aşından sonra 30. günde anti-HBs negatif olan diğer 19 olguda 60. günde yapılan 3. doz aşından 1 ay sonra bakılan anti-HBs tüm olgularda pozitif bulunmuştur (primer yanıt). Çalışmada aşıya yanıtız olgu saptanmamıştır. Sekonder antikor yanıtı görülen olgulardaki izole anti-HBc pozitifliğinin daha önce geçirilen HBV enfeksiyonuna bağlı olduğu, oluşan anti-HBs yanıtının zaman içinde saptanamayacak düzeye indiği düşünülmüştür. Olguların %50'sinde primer antikor yanıtı görülmesi, HBV ile karşılaşmamış olduklarını düşündürmüştür.

Aşılama sonuçlarımıza göre %78 (18/23) oranında koruyucu antikor titresi elde edilmiştir. Bu oran literatür bilgileriyle uyumludur. Ancak ilginç

olanı aşılardan 6 HBV-DNA pozitif olgunun 5'inde aşıya yanıt alınmasıdır. Bildiğimiz kadarıyla izole anti-HBc pozitifliği saptanıp sonradan PCR ile HBV-DNA pozitifliği bulunan kişilerin HBV yanıtı konusunda yapılmış çalışmaya rastlayamadık. Büyük bir olasılıkla bu tip bir çalışma olmamasında temel neden, izole anti-HBc pozitiflerde hibridizasyon ile HBV-DNA pozitifliği saptananların tümünde doğrudan bağışıklık yokluğunun düşünülmesidir.

Sonuç olarak, gerek literatür bilgileri gerekse bizim bulgularımız anti-HBc'nin tek başına saptanmasının klinik ve terminolojik anlamının gerçekten tartışmalı olduğunu ortaya koymuştur. HBsAg/anti-HBs negatif, anti-HBc pozitif saptanan olgularımızın önemli bir kısmında HBe antijenine karşı antikorların bulunduğu (%48, 22/46), bir kısmında da HBV-DNA'nın pozitif olduğu (%28.5, 8/28) saptanmıştır. Aşı sonrasında olguların önemli bir kısmında yanıt alınmasının, bu serolojik göstergenin büyük ölçüde kantite edilemeyen bağışıklığı yansıttığı düşünülmüştür. Aşıya yanıtızların, tarama testleriyle saptanamayacak düzeyde HBV enfeksiyonuna sahip olabileceği unutulmamalıdır.

#### KAYNAKLAR

1. Badur S: Hepatit B virusu (HBV) moleküler viroloji ve serolojik tanısı, "K Kılıçtırgay (ed), Viral Hepatit 94 2. Baskı" kitabında s 65, 1994, Viral Hepatitle Savaşım

- Derneği, İstanbul.
2. Beşışık F, Ökten A, Kaymakoğlu S ve ark: Immune response to recombinant hepatitis B vaccine in persons with isolated serum antibody to hepatitis B core antigen. *T Klin Gastroenterohepatoloji*, 1992, 3:226-228.
3. Özacar T, Zeytinoğlu A, Erensoy S, Yapar N, Hoşgör M, Bilgiç A: Hepatit B virus serolojisinde salt anti-HBc olumluluğu ve HBV aşısına yanıt. *Viral Hepatit Derg*, 1995, 1 (2): 69-71.
4. Draelos M, Morgan T, Schiffman RB, Sampliner RE: Significance of isolated antibody to Hepatitis B core antigen determined by immune response to hepatitis B vaccination. *JAMA*, 1987, 258 (9): 1193-95.
5. Badur S: Posttransfüzyon hepatiti sorunu. *Türk Mikrobiol Cem Derg*, 1991, 21:234.
6. Lok ASF, Lai CL, Wu PC: Prevalence of isolated antibody to hepatitis B core antigen in an area endemic hepatitis B virus infection: implications in hepatitis B vaccination programs. *Hepatology*, 1988, 8:766.
7. Zülfikar B, Öztürk R, Kınık K ve ark: İstanbul'da değişik yaş grubundan sağlıklı kişiler, hamileler, diş hekimleri ve berberlerde hepatit B taraması sonuçları. III .Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu. p:20, 7-9 Kasım 1996, Ankara.
8. Jilg W, Sieger E, Zachoval R, Schötl H: Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as the only serological marker for hepatitis B infection: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. *J Hepatol*, 1995, 23 (1): 14-20.
9. Sanchez-Quijana A, Jauregui JI, Leal M et al: Hepatitis B virus occult infection in subjects with persistent isolated anti-HBc reactivity. *J Hepatol*, 1993, 17:288-93.
10. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV: Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest*, 1994, 93:230-39.
11. Sonsuz A, Şentürk H, Özdemir S, Karakurt S, Akın P, Gürakar M: İzole "Core antikor" (anti-HBc) varlığı ile seyreden karaciğer hastalıkları. *Gastroenteroloji*, 1992, 3 (1): 19-21.