

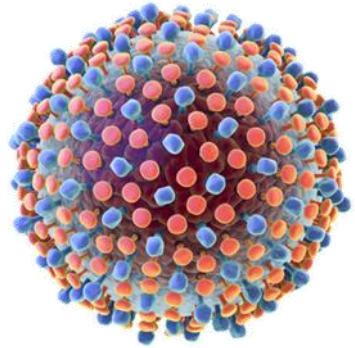
Geçmişten Günümüze

Hepatit B'de Tanısal Testler: Neler Değişti?

Barış Otlu

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya.



Sümer Tabletleri

- M.Ö. 3000, Mezopotamya, Sümerlilerin **Kil Tabletleri**
- İlk tıp kitabı sayılan bu tabletlerde çivi yazısı ile **hepatit** tarif ediliyor



Sümer Tabletleri

- Etyolojik ajan; **Ahhazu** (teslim alan)
- Nereye saldırıyor; **ruhun evi** olan karaciğere



Sümer Tabletleri

- Tedavi ?

Şöyle yazıyor:

- Eğer bir erkek, ahhazu-sarılık hastasıysa, onu iyileştirmek için:
kukuru, burashu-ardıç, ballukku, suadu, tatlı saz,
urnû, ata'ishu, 'fox-wine', pırasa, stink, tarmush,
'heals-a-thousand', 'heals-a-twenty', colocynth.
- Bu 14 bitkinin bira içinde eşit miktarda kaynatılmasını sağlayın.
- Harmanı **bir gece yıldızlar** altında dışarıda bırakırsınız.
- Süzün ve içine bitki yağı ve bal ekleyin.



Virüsü Bilmeden Virüsün İzinde

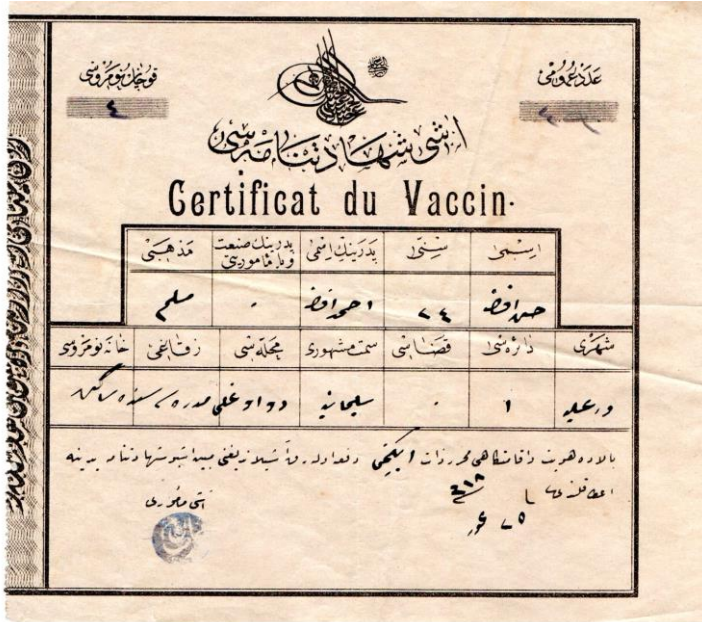
- Lady Montagu'nun mektupları

tarihte aşı uygulamasına dair ilk ve en eski resmi belge olarak kabul edilir



Virüsü Bilmeden Virüsün İzinde

- Çiçek Aşısı Şehadetnamesi



Aşı Şehadetnamesi
Yıl: 25 Temmuz 1900

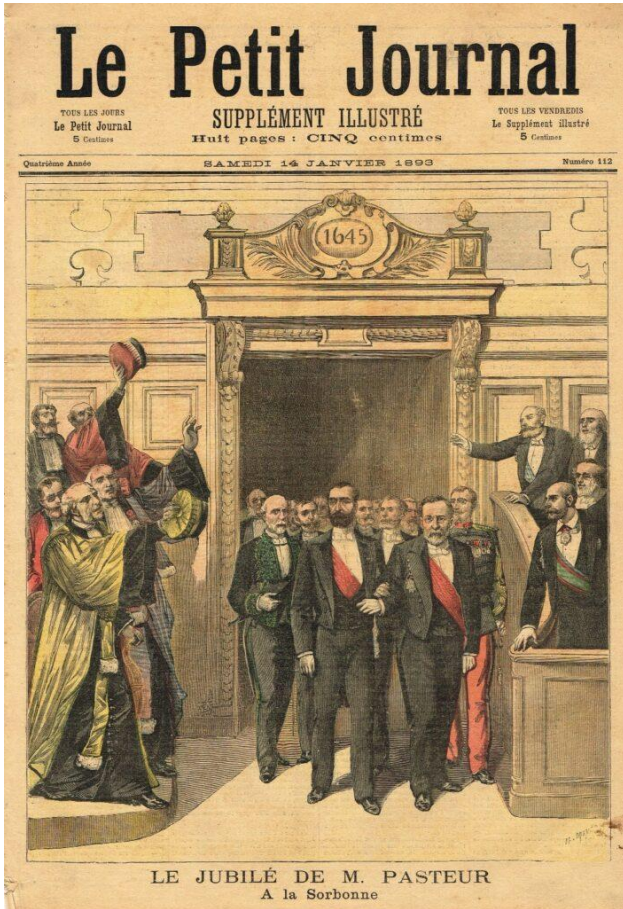
Çiçek aşısı ilk kez 1885 yılı Mayıs ayında, “1301 Nizamnâmesi” olarak bilinen kanunla mecburi olarak uygulanmaya başlandı. 1978 yılından sonra hiçbir çiçek olgusuna rastlanmamıştır. Bu yüzden son vakadan 10 yıl sonra, yani 1988 yılında aşı uygulanmasına tüm dünyada son verilmiştir.

Osmanlıca Belgede Yazılı Olanlar:
Pederinin İsmi: Ahmed Efendi
İsmi: Hasan Efendi
Semi: Süleymaniye

Balada (yukarıda) hüviyet ve ikametgahı muharrer zat ikinci defa olarak aşılandığını beyan işbu şehadetname yedine (kendisine) i'ta kılındı fi 25 Temmuz sene 318.
Aşı Memuru

Virüsü Bilmeden Virüsün İzinde

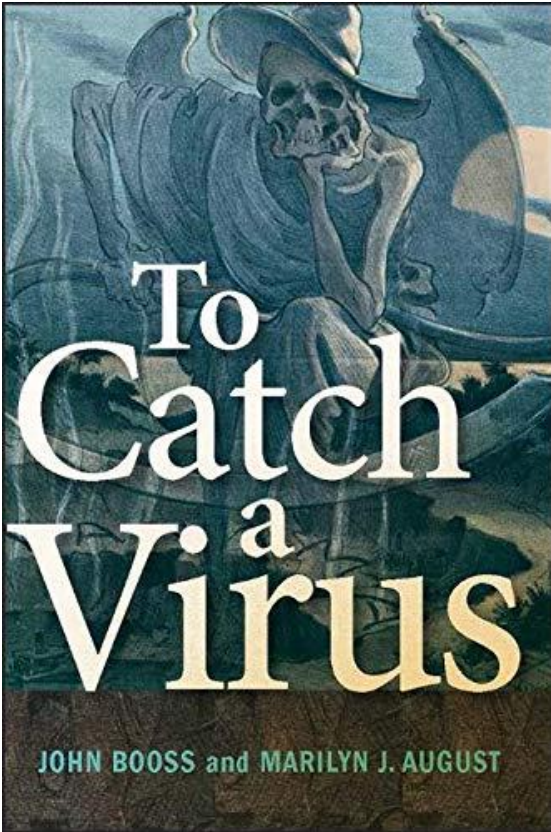
- 1893 Luis Pasteur; 70. yaş günü için bir jübile düzenlendi, Louis Pasteur 27 Aralık 1892'de Sorbonne'a davet edildi. 5.000 kişinin önünde, Cumhurbaşkanı Sorbonne'un büyük amfi tiyatrosuna giriyor



Virüsü Bilmeden Virüsün İzinde

Bir Virüsü Yakalamak

- Teknolojideki ilerlemeleri öne çıkaran, viral salgın öyküleriyle iç içe geçmiş, **tanısal virolojinin** gelişiminin tarihsel bir anlatısıdır.

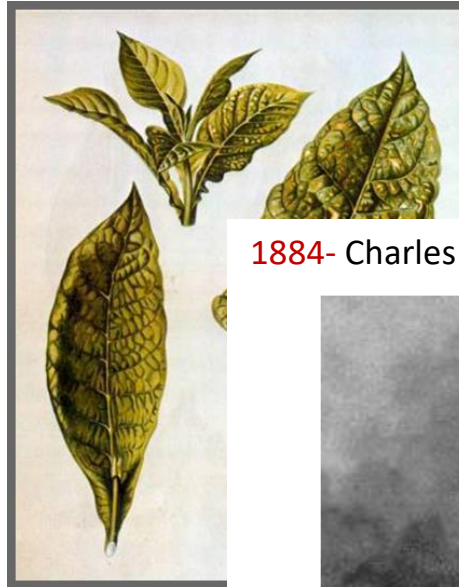


1885 yılında **Joseph Meister**'i ısırın köpeğe kuduz teşhisi, nekropsi sırasında köpeğin midesinde bulunan tahta parçalarına dayandırıldı....



Virüslerin varlığından şüphe

- 1892, Dimitri İosifovich İvanovski (1864-1920)
- porselen Chamberland filtrelerine nüfuz edebilen bir hastalık etkeni

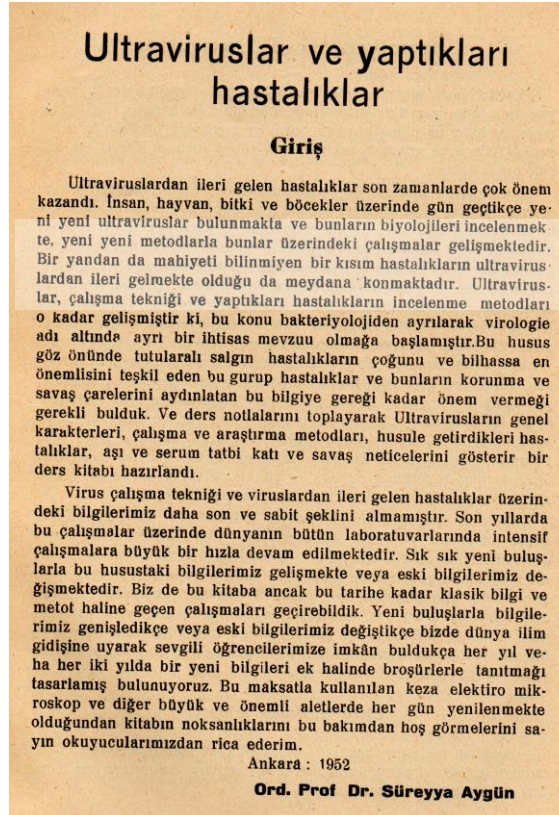
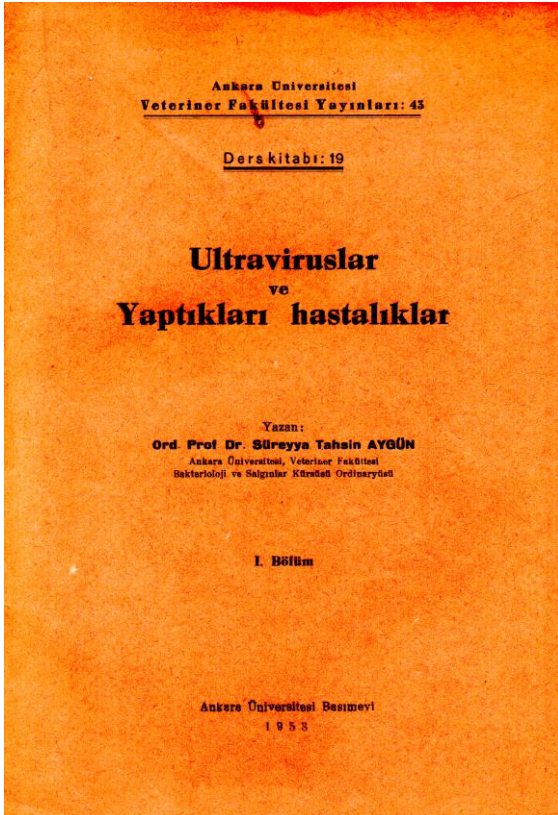


1884- Charles Edouard Chamberland



Virüslerin Keşfi ve Şaşkınlık

- 1953, Ultra Viruslar ve Yaptıkları Hastalıklar
- Bunlara; - ultramicrob, - ultravirus, - süzgeçleri geçen mikroplar, - görülemeyen mikroplar, **veya sadece virus adı verilmektedir.**
- Ultraviruslar, çalışma tekniği ve yaptıkları hastalıkları incelenme metodları o kadar gelişmiştir ki, bu konu «**bakteriyolojiden ayrılarak virologie adı altında ayrı bir ihtisas mevzusu**» olmağa başlamıştır.



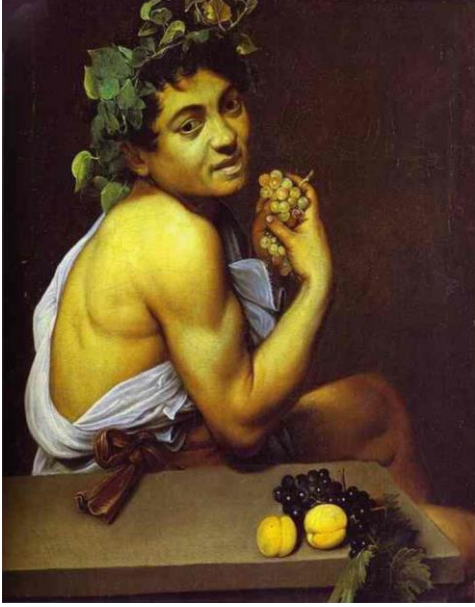
Virüslerin Keşfi ve Şaşkınlık

- “Viruslar kendi replikasyonları için hücresel sistemleri kullanan **moleküler genetik parazitlerdir**” (Luria SE)
- “Viruslar yaşam ağacının **ökseotlarıdır**” (McGeoch)
- “Proteinle sarılmış **bir parça kötü haberdir**” (Medawar)
- “**Viruslar viruslar olarak düşünölmelidir, çünkü viruslar viruslardır**” (Lwoff, 1957)



Hepatit ile ilgili ilk laboratuvar testleri

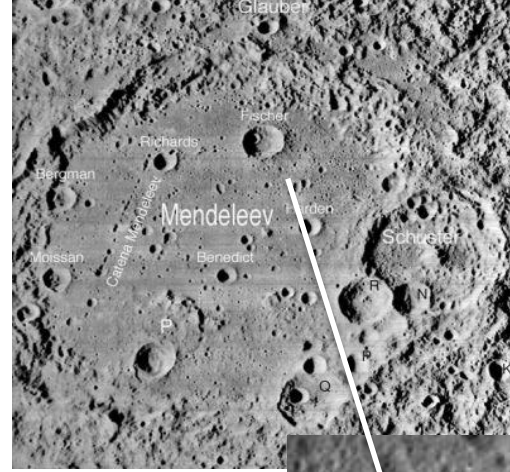
- 1911, Hans Fischer, bilirubinün yapısını çözdü



Michelangelo Merisi Caravaggio -
Otoportre



1930, Nobel Ödülü



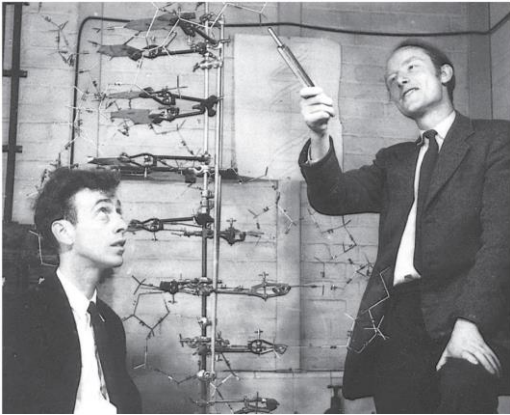
Hepatit Kliniđi

- İkinci Dünya Savaşı'nın sonuna gelindiğinde hastalıklara farklı filtrelenebilen ajanların neden olduğu biliniyordu ve **1947'de "hepatit A" ve "B" terimleri tanıtıldı**
- **Dr. Saul Krugman'ın** Willowbrook sakinlerini kullandı.
1955'ten 1970'e kadar **çocuklara kan enjekte** edildi veya bağışıklıklarını incelemek için diğer enfekte **çocukların dışkısıyla karıştırılmış çikolatalı süt** içirildi.



1950'lerin Bilim İklimi

1953, Watson Crick



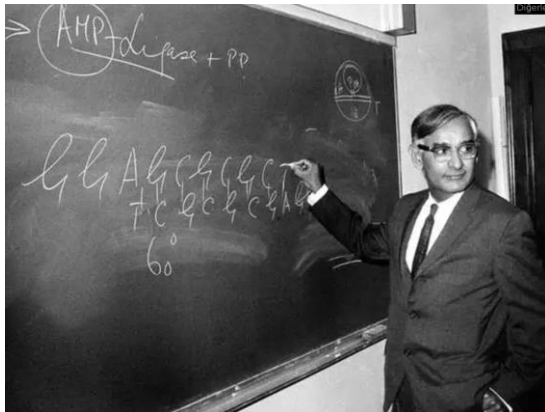
1955, Frederic Sanger



1956, Arthur Kornberg



1960, Har Gobind Khorana



1962, Cambridge Moleküler Biyoloji Laboratuvarı



1950'lerin Bilim İklimi

- **MacFarlane Burnet**, "görünüşte sağlıklı insanların belki de %1'inin kanında virüs bulunduğunu" ve bu sessiz taşıyıcıların insan popülasyonlarında virüsün varlığını sürdürmesinden sorumlu olduğunu belirtmiştir.



Burnet sözlerine şöyle devam etmiştir:

"... Bence bir viroloğun umut edebileceği en büyük entelektüel ödül, bir gün serum **hepatitinin** gerçek doğasını açıklayan ilk kişi olmasıdır."

Baruch S. Blumberg (1925-2011)

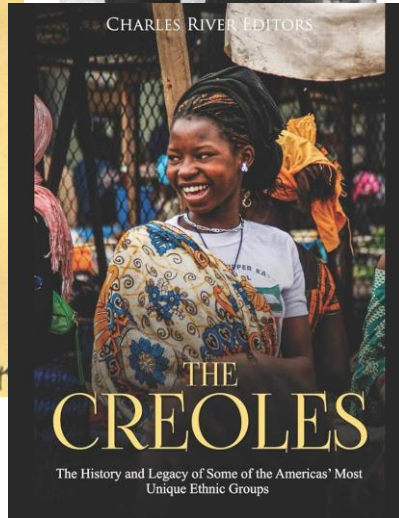
- Maceracı ve kaşif.
- II. Dünya savaşı sonunda bir **çıkarma gemisinin komutanı** olarak görev yaptı.
- Fizik lisans , matematik yüksek lisans derecesine sahipti.



Baruch S. Blumberg Motunheimen, Norway Summer 1963

Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- Tıp fakültesinin üçüncü yılında parazitoloji okuduktan sonra bir yazını Surinam'da geçirdi.
- Yerel nüfusun çeşitliliğinden ve bulaşıcı hastalıklara karşı duyarlılıklarındaki belirgin farklılıktan etkilendi



Filariasis in Moengo (Surinam) in 1950.

Journal article: [Documenta Neerlandica et Indonesica de Morbis Tropicis](#), 1951, Dec, Vol. 3, No. 4, 368-72 ref. 1 graph.
Authors: B. Blumberg, J. McGiff, I. Guicherit

Abstract

Of a total of 1,966 persons examined at Moengo, Surinam, for the presence of microfilariae of *Wuchereria bancrofti*, 272 (13.7 per cent.) were found positive. Those examined comprised employees (1,013) of the Surinam Bauxite Company and their families (953) and the infection rates in these two groups were 14 and 13.3 per cent. respectively. Thick blood smears, stained with Giemsa, were taken at night between 10 and 11 p.m. except in the case of night workers, from whom blood was taken during the day.

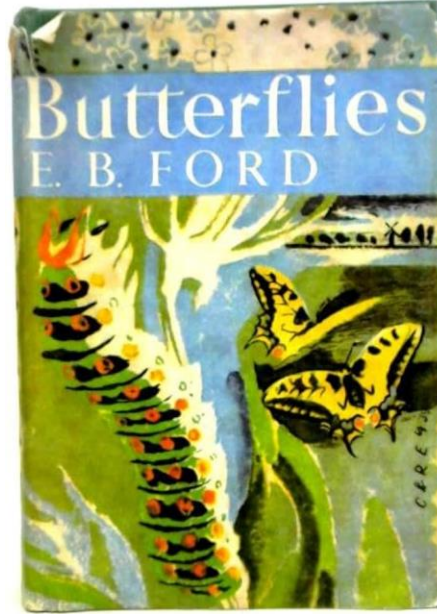
The age-group incidence of the infection showed a marked rise in the 6 to 15 group and a fairly uniform incidence in subsequent groups. The incidence in males and females was 13.4 and 14.7 per cent. respectively.

Analysis of race incidence revealed by far the highest rate in Creoles, namely 20 per cent. of 106 employees and 17 per cent. in 710 of their relatives. Creoles and Indonesians are the numerically predominant races in the population. The incidence in the latter was 4.5 per cent. in 310 employees and 2.6 per cent. in 150 relatives. Hindus, Chinese, Whites and American Indians form only a small proportion of the people. Next highest to that of the Creoles was the incidence in American Indians, namely 6 (21 per cent.) of 28 employees and 2 (6.9 per cent.) of 29 relatives.

Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- Tıp Fakültesini bitirdikten sonra **romatoloji alanında klinik uzmanlığını** tamamladı.
- Biyokimya eğitimi almak için **Oxford Üniversitesine gitti**, tezi hiyüronik asitin fiziksel ve biyokimyasal özellikleriydi.

Edmund Brisco " Henry " Ford



bir türün diğer türden farklılığının sürekliliği olarak tanımlanan **polimorfizm** kavramıyla tanıştırdı.

Hastalığa karşı direnci mekanizmalarını aydınlatılabilir.

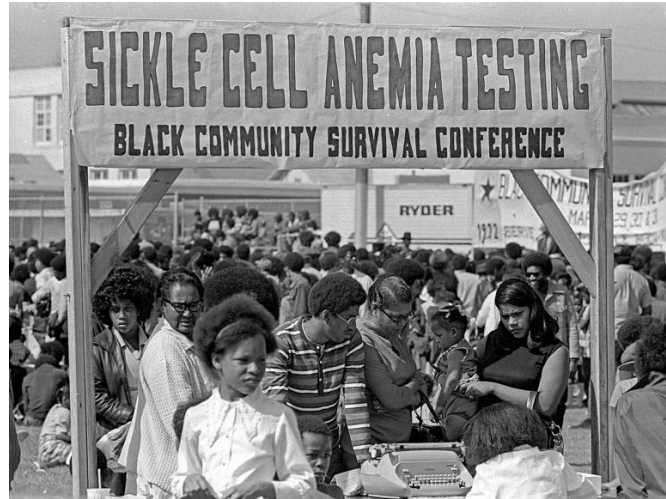
Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- **Orak hücre** özelliğinin coğrafi dağılımını araştıran ve bunun **falciparum sıtmasına** karşı dirence neden olur

Anthony Clifford Allison



- 1957'de Blumberg ve Allison Nijerya'ya gittiler ve burada farklı insan gruplarından kan örneği topladılar



Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- NIH kadrosuna katıldı,

Allison ile birlikte **Alaska'da** kendi saha çalışmasını yürütebildi; burada hem farklı insan topluluklarından hem de çeşitli hayvan türlerinden **yine kan örnekleri topladı**



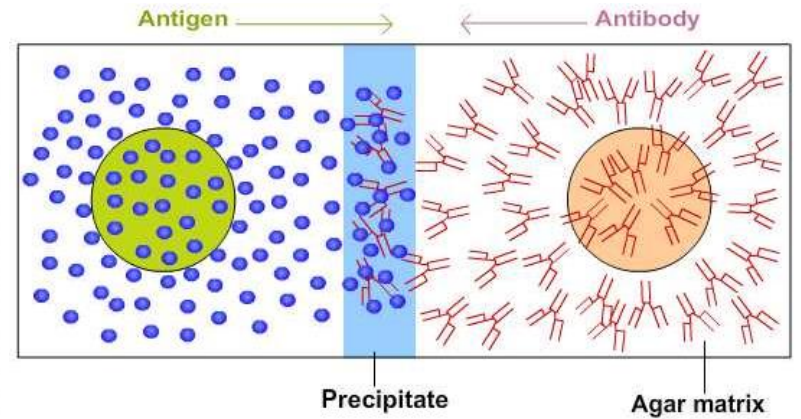
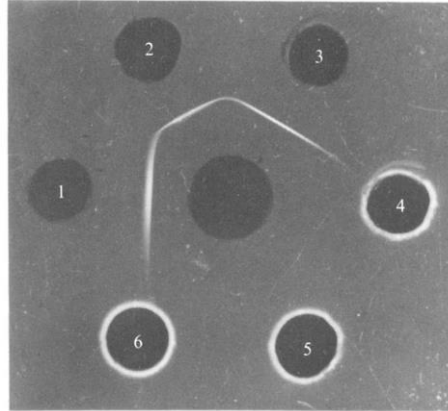
The Haptoglobins, Hemoglobins and Serum Proteins of the Alaskan Fur Seal, Ground Squirrel and Marmot

B. S. BLUMBERG,¹ A. C. ALLISON² AND BARBARA GARRY¹
*National Institutes of Arthritis and Metabolic Diseases, National Institutes
of Health, Bethesda, Maryland, and National Institute for
Medical Research, London, N.W. 7*

Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- İsveçli bakteriyolog **Ouchterlony** tarafından tanıtılan
- Agar **jel immünodifüzyon** tekniğini kullanarak numuneleri test etti.

Örjan Thomas Ouchterlony



Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- 50'den fazla transfüzyon almış bir kişinin serum koleksiyonundaki bazı örneklerde bir lipoproteini bağlayan bir antikora sahip olduğunu buldular.
- Kan transfüzyonunun bazı komplikasyonlarının serum proteinlerindeki çeşitliliğin bir sonucu olabileceğinin keşfi,

634 MARCH 25, 1961

AN ISOPRECIPITATION REACTION DISTINGUISHING HUMAN SERUM-PROTEIN TYPES

A. C. ALLISON
M.A., B.M., D.Phil. Oxon.

OF THE NATIONAL INSTITUTE FOR MEDICAL RESEARCH, LONDON, N.W.7

B. S. BLUMBERG
M.D. Columbia, D.Phil. Oxon.

OF THE NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, BETHESDA, MARYLAND

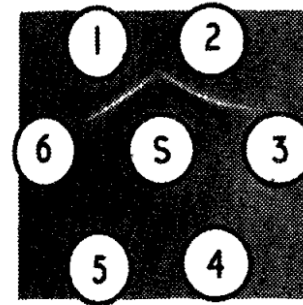


Fig. 1

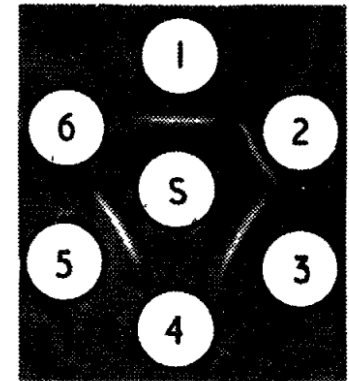


Fig. 2

Fig. 1—The precipitin reaction, seen in an agar-gel Ouchterlony plate, between the serum of the patient in the centre well and some, but not all, members of a panel of sera from normal persons. Unstained plate after 24 hours.

Fig. 2—The precipitin reaction between the serum of the patient in the centre well against some, but not all, members of a panel of sera.

Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- Barry kan bankacılığı kariyerine yeni başlayan bir NIH araştırmacısı olan Harvey Alter ile temasa geãirdi.
- Alter, transfüzyon komplikasyonlarının kaynaklarını araştırıyordu.

Harvey Alter



Multiple Antigenic Specificities of Serum Lipoproteins Detected with Sera of Transfused Patients

B. S. BLUMBERG, H. J. ALTER, NANCY M. RIDDELL and
MARION ERLANDSON

Geographic Medicine and Genetics Section, and Blood Bank, National Institutes of
Health, Bethesda, and Department of Pediatrics, New York Hospital, N. Y.

Ouchterlony
plakları

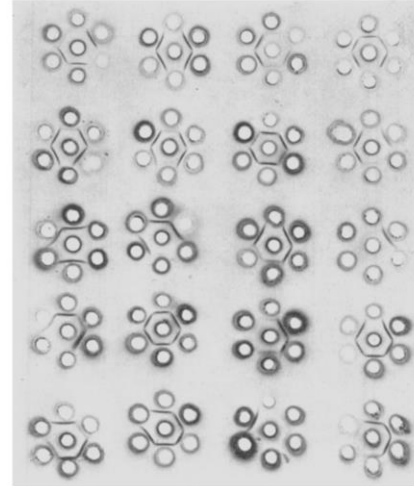
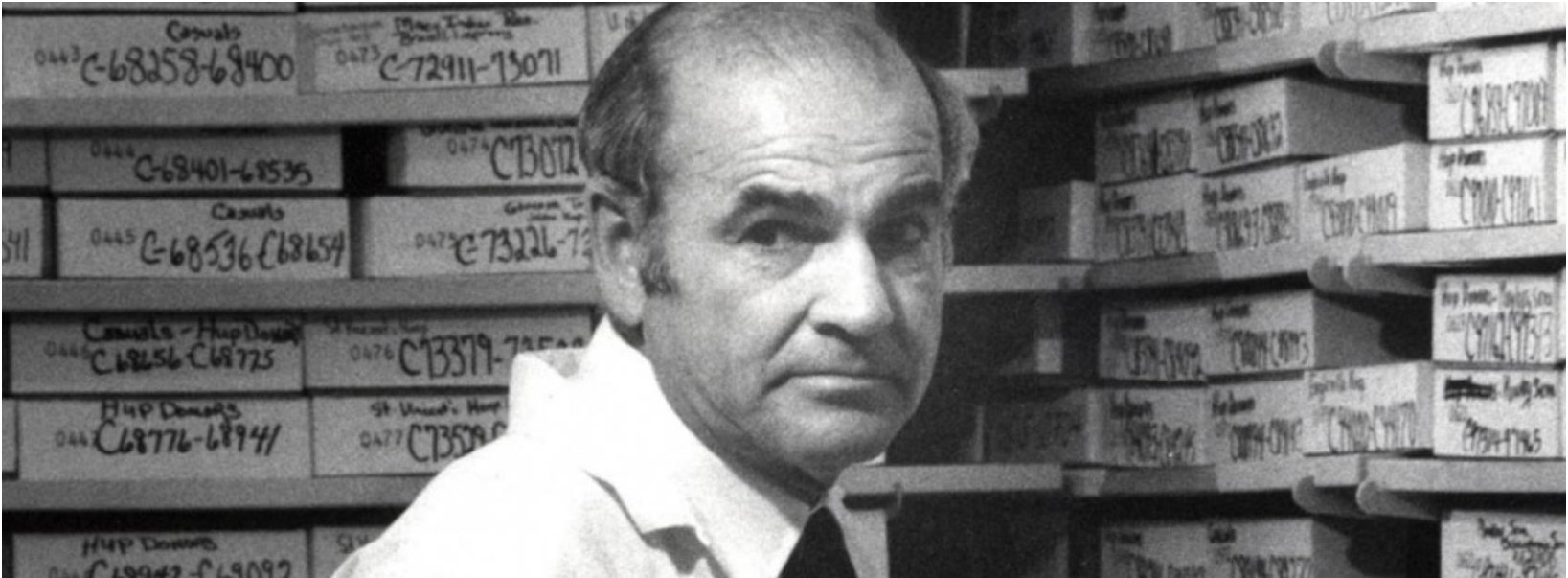


Fig. 1. Micro-Ouchterlony method on 3 1/2" x 4" lantern slide. The center cup of each 7 hole pattern contains C. de B. antiserum and the peripheral wells contain normal sera whose phenotypes are to be determined. One hundred and twenty sera can be tested at one time using this pattern. Sudan Black stain.

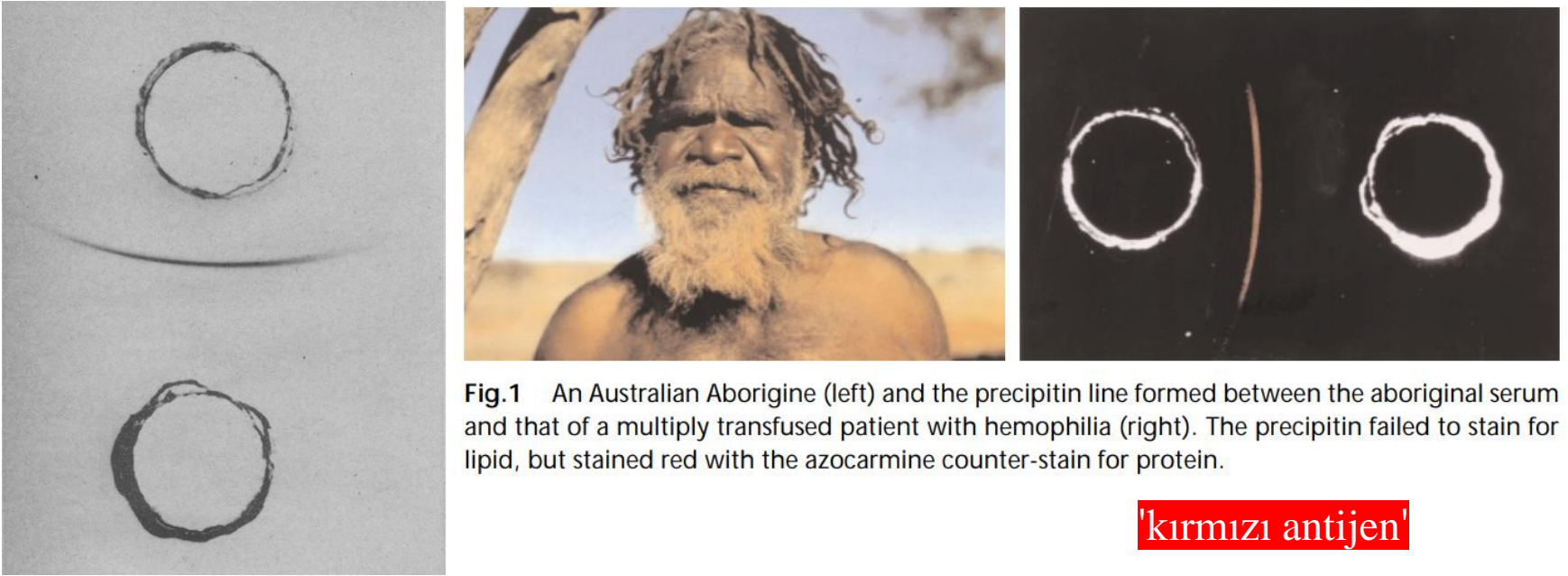
Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- Blumberg'in dondurucularındaki birçok örnek **kronik HBV enfeksiyonunun** oldukça yaygın olduğu coğrafi bölgelerden
- Sonunda bir **Ouchterlony plakasında alıılmadık bir bant üretmesi kaçınılmazdı.**



Baruch S. Blumberg (1925-2011)

- 1964 yılında Alter'in Blumberg'in koleksiyonunun **Avustralyalı bir Aborijinden** alınan numune ile hemofili hastasının serumunu test etti
- Sudan siyahını almayan, bunun yerine **azokarmin** ile güçlü bir şekilde **kırmızıya boyanan** ve yüksek **protein** içeriğine işaret eden bir presipitin çizgisi gözlemlenmesiyle ortaya çıkmıştır



'kırmızı antijen'

Avustralya antijeni (AuAg)

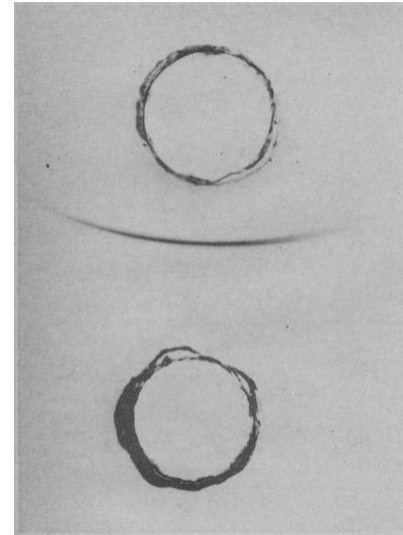
- 1965, Avustralya antijenin nedeni?
- Bu çökeltilerin yalnızca sık transfüzyon yapılan hastalarda. Transfüzyon alan 47 talasemi hastasının yaklaşık %30'unda anti-lipoprotein izopresipitin gelişti

Clinical Science

A “New” Antigen in Leukemia Sera

The “Australia antigen” is found in the sera of some normal individuals from foreign populations. The total absence of the antigen from the sera of normal United States subjects and its relatively high frequency in acute leukemia suggests that the presence of the antigen may be of value in the diagnosis of early acute leukemia. Whether the antigen results from or precedes the leukemia process remains to be seen.

Baruch S. Blumberg, MD, Harvey J. Alter, MD, and Sam Visnich



1. Formation of precipitin line between serum from leukemia patient (top well) and hemophilia serum (bottom well).

Kanser Araştırmaları Enstitüsü

- **Au Antijeninin** hastalığa yatkınlığın bir belirteci olarak daha fazla araştırma sözü olarak Blumberg'in NIH'den Philadelphia'daki **Kanser Araştırmaları Enstitüsü'ne** geçti

HEPATITIS AND LEUKEMIA: THEIR RELATION TO AUSTRALIA ANTIGEN

BARUCH S. BLUMBERG, ALTON I. SUTNICK,
AND W. THOMAS LONDON

The Institute for Cancer Research
Fox Chase, Philadelphia, Pa.

IN 1961 we discovered that patients who have received transfusions may develop precipitating antibodies against serum beta-lipoprotein.¹⁻³ The antisera found in these patients were used to define a system of inherited antigenic specificities on the serum low-density beta-lipoproteins.^{4,5} This was termed the Ag system, and a variety of specificities and alleles have been described.^{6,8} These antibodies were common in patients who received very large numbers of transfusions (for example about one third of thalassemia patients), and the antigens which reacted with these specificities were common in the general population. A search for additional precipitating antibodies was continued on the hypothesis that other antigenic systems might be discovered. In 1964 an antibody was detected in the serum of a transfused hemophilia patient which was clearly different from the lipoprotein precipitins previously found.⁹ It reacted with only one serum in a panel of 24 against which it was tested; since the reacting serum was that of an Australian aborigine, the antigen was given the geographic name "Australia antigen."¹⁰ Subsequent studies showed the antigen to be extremely rare in American populations but it was relatively common in several interesting diseases

HEPATITIS AND LEUKEMIA

1567

TABLE I. AUSTRALIA ANTIGEN DISTRIBUTION IN PATIENTS
AND CONTROLS

	No. tested	Au positive No.	%
Controls (nonhospitalized "normal")	2,412	2	0.1
Hospital patients, serial admissions	1,055	2	0.2
<i>Liver disease</i>			
Hepatitis, acute viral	125	25	20
Infectious mononucleosis	67	0	0
Laennec's cirrhosis	52	0	0
Other liver disease	15	0	0
<i>Leukemia</i>			
Acute myelogenous	51	7	14
Chronic myelogenous	63	0	0
Acute lymphocytic	89	11	12
Chronic lymphocytic	49	5	10
Hodgkin's disease	16	2	13
Down's syndrome (institutionalized)	257	75	29
Transfused anemia patients	144	5	3
Solid tumors	95	0	0
Various other diseases	1,414	0	0

Addition detail is given in Blumberg *et al.*¹⁰ Sutnick *et al.*²⁰ London *et al.*¹⁸ and Blumberg *et al.*¹¹

Kanser Araştırmaları Enstitüsü

- 1968, Avusturalya antijeni Down Sendromu, lösemi ve hepatit ile ilişkili olabilir.

Particles associated with Australia Antigen in the Sera of Patients with Leukaemia, Down's Syndrome and Hepatitis

AUSTRALIA antigen was first identified using an antiserum produced in a transfused patient^{1,2}. The antiserum gave a clear precipitin line in a double diffusion experiment when placed adjacent to the serum from an Australian aborigine. Pending further identification of the antigen, the geographic name "Australian antigen" was given to the reacting material found in the aborigine's serum. Specific antisera against this antigen can be produced by immunizing rabbits with serum containing Australia antigen, and subsequent absorption with serum which does not contain Australia antigen³. The precipitin band which forms between the haemophilia antiserum and the serum containing Australia antigen stains faintly with sudan black, indicating that the antigen contains lipid. It has a specific gravity of less than 1.21 and appears in the first peak in 'Sephadex G-200' column chromatography (indicating a high molecular weight)⁴.

Australia antigen is extremely rare in normal people in the United States²⁻⁷. It is, however, common in patients with viral hepatitis (approximately 20 per cent), in whom its presence seems to be transient^{5,7}. It is also common in patients with Down's syndrome^{5,8} and chronic anicteric hepatitis⁷, but here the antigen is persistent for many years. It is also found in high frequency in some forms of leukaemia^{2,5}, in lepromatous leprosy (9 per cent)^{9,10}, as well as in apparently normal people living in tropical areas^{2,11}.

MANFRED E. BAYER
BARUCH S. BLUMBERG
BARBARA WERNER

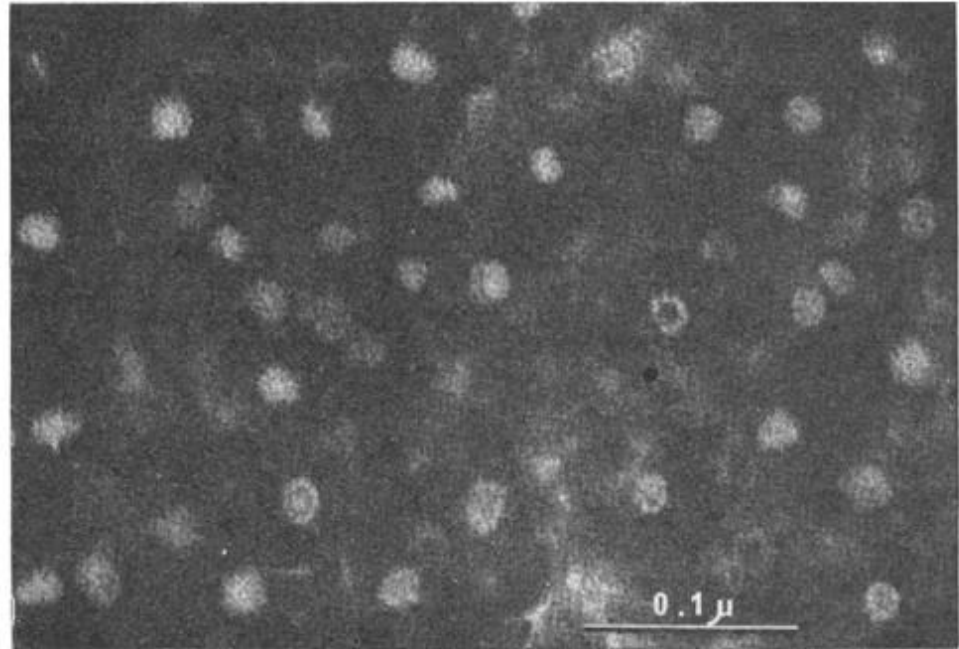


Fig. 3. Australia antigen particles negatively stained ($\times c. 225,450$).

Au Antijeni ile viral hepatit arasında bağlantı

- Çoklu transfüzyon gerektiren bir çok farklı hastalıkta **Au Antijenine** rastladılar.
- Blumberg'in küresel seyahatleri sırasında topladığı **çok sayıda serumda** özellikle **Okyanusya ve diğer tropikal bölgelerdeki popülasyonlar** arasında yaygın olduğu bulundu.

Dr. Barbara Werner

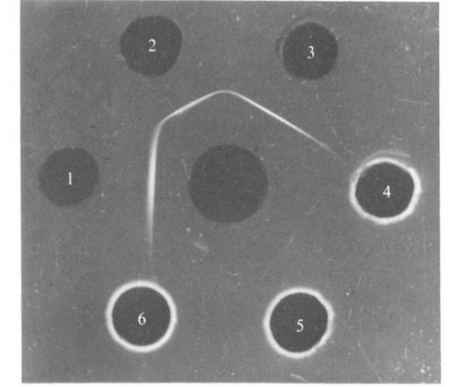


TRANSAMINASE ACTIVITY IN HUMAN BLOOD

By ARTHUR KARMEN, FELIX WRÓBLEWSKI, AND JOHN S. LADUE
(From the Sloan-Kettering Institute, Department of Medicine, Memorial Center, New York City, N. Y.)

(Submitted for publication April 3, 1954; accepted July 15, 1954)

Enzymatic transamination consists of the enzyme catalyzed reversible transfer of the alpha amino nitrogen of an amino acid to an alpha-keto acid with the synthesis of a second amino acid and a second alpha-keto acid. Enzymes catalyzing different transamination reactions are found widely distributed in animal tissues and have been shown to change in activity in some tissues during disease (1-3). These observations prompted the present study to determine if transaminase activity could be demonstrated in human serum and blood cellular elements and, if so, to study any variations in activity of this enzyme in the blood of normal and diseased man.



Au-negatif kontrol



Hastalık karaciğer ve sarılıkla ilişkili

Avustralya antijeni (AuAg /SH)

- 1969, bizim şüphelerimize göre Avustralya antijeni bir virüsle ilişkilidir.

Australia Antigen detected in the Nuclei of Liver Cells of Patients with Viral Hepatitis by the Fluorescent Antibody Technique

OUR suspicion that the Australia antigen associated with acute and chronic hepatitis is a virus and is the cause of the disease has been supported by examination of material from affected patients. Au(1) was first detected in the serum of an Australian aborigine¹, and the geographic distribution, disease association, genetics and physical and chemical characteristics of this unusual antigen have been described²⁻⁴. One of the most startling findings in

IRVING MILLMAN
VERONICA ZAVATONE
BETTY JANE S. GERSTLEY
BARUCH S. BLUMBERG

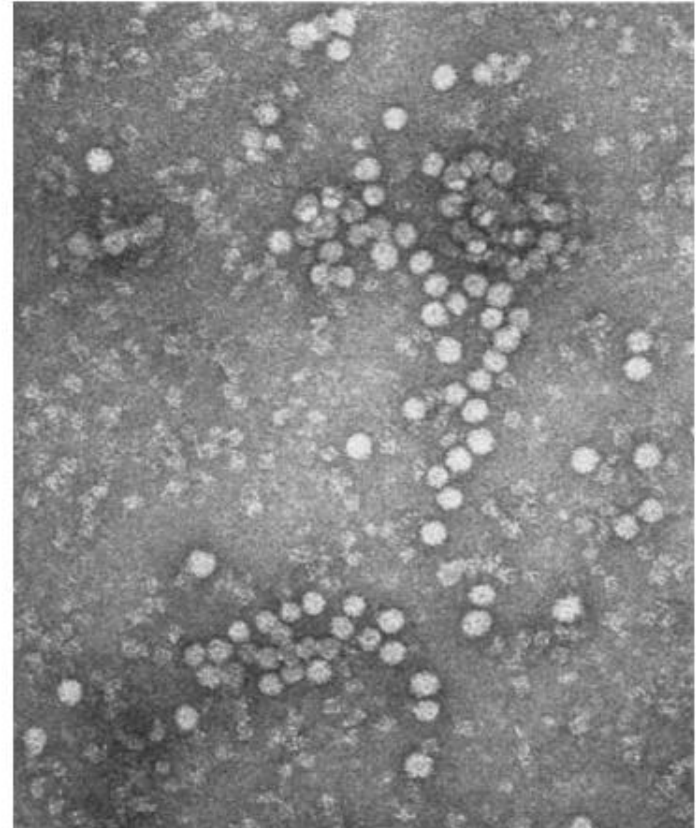


Fig. 1. Electron photomicrograph of purified fraction of Au(1) from serum of patient with anicteric hepatitis. Particles are 200 Å units in diameter.

Avustralya antijeni (AuAg)

- 1970 , Avusturalya antijeni bir **hepatit virüsüdür.**
- Karaciğer hücreleri içerisinde **işaretli antikorlar** ile gösterildi.

JANUARY 1970

The American Journal of Medicine

VOLUME 48

NUMBER 1

Australia Antigen as a Hepatitis Virus*

Variation in Host Response

BARUCH S. BLUMBERG, M.D., D.PHIL.

ALTON I. SUTNICK, M.D.

W. THOMAS LONDON, M.D.

Philadelphia, Pennsylvania

TABLE II Conditions Associated with Australia Antigen (Au(1))

Data	History of Transfusion	Persistence of Au(1)	Frequency of Au(1) (%)	SGPT
Group A—Acute hepatitis				
"Post-transfusion"	Yes	...	~58	↑↑↑
"Infectious"	No	...	~38	↑↑↑
Group B—Chronic active hepatitis	Yes and No	+	(6 of 9)	↑↑
Group C—Chronic anicteric hepatitis				
Down's syndrome	No	+	~30	↑
Leukemia (AML, CLL, ALL)	Yes and No	+	~10	↑ or ↔
Lepromatous leprosy	No	+	~20	↑
Chronic renal dialysis	Yes	+	(8 of 9)	↑
Group D—"Normal" carriers				
Apparently normal people (i.e., Cebu, Japan, Rongelap)	No	+	1-20	↔

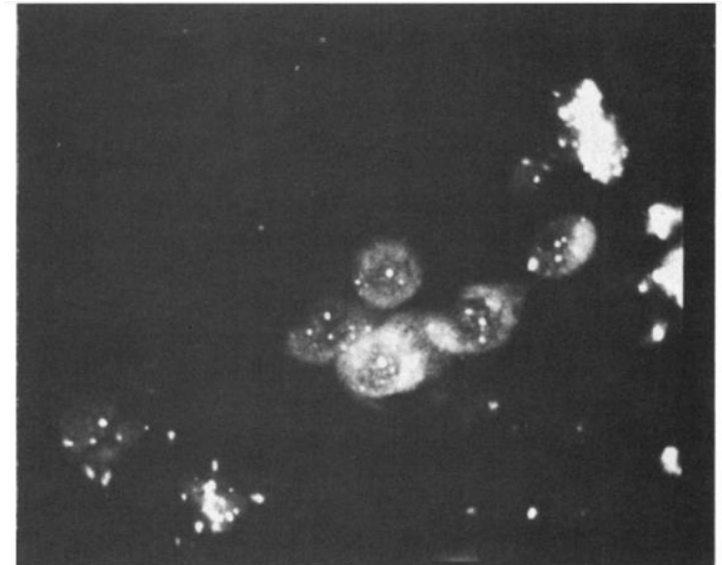


Fig. 3. Fluorescent granules in the nuclei of liver cells of hepatitis patients with Au(1) in their serum, detected by fluorescein labelled anti-Au(1). (From Millman et al. [16].)

Harvey Alter

- Au'nun hepatit B ile kesin olarak ilişkilendirilmesinden önce bile Alter ve Holland, kanıtları, transfüzyondan önce bağışlanan **tüm kanların taranması çağrısında bulunmak için yeterli görmüştür**

Harvey Alter



CLINICAL AND SEROLOGICAL ANALYSIS OF TRANSFUSION-ASSOCIATED HEPATITIS

HARVEY J. ALTER

PAUL V. HOLLAND

ANDREW G. MORROW

ROBERT H. PURCELL

STEPHEN M. FEINSTONE

YASUO MORITSUGU

Blood Bank Department, Clinical Center, Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, and Surgery Branch, National Heart and Lung Institute, Bethesda, Maryland 20014, U.S.A.

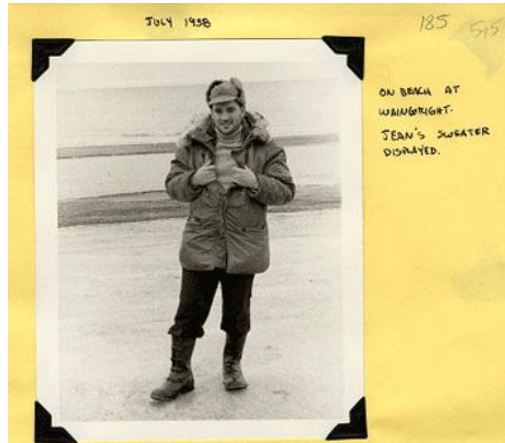
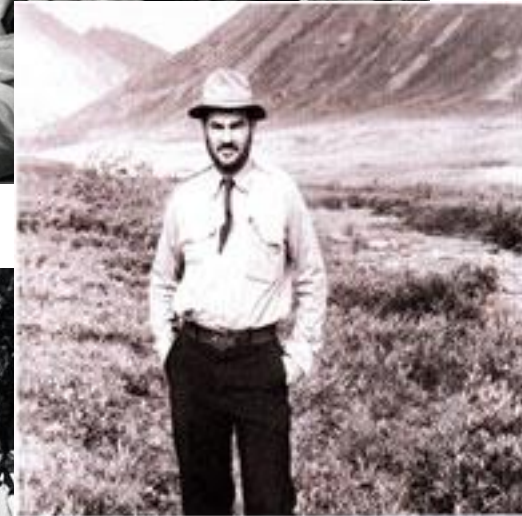
Summary Of 108 prospectively followed, multiply transfused, open-heart-surgery patients, 12 (11%) developed hepatitis. Patients received only volunteer donor blood tested for hepatitis-B surface antigen (HBsAg) prior to transfusion by counterelectrophoresis (C.E.P.). 4 of the 12 patients developed hepatitis-B-virus infection. Subsequent testing of donor serums by solid-phase radioimmunoassay (R.I.A.) revealed that an R.I.A.-positive, C.E.P.-negative blood unit was transfused to 3 of the 4 type-B hepatitis cases,

Avustralya antijeni (AuAg)



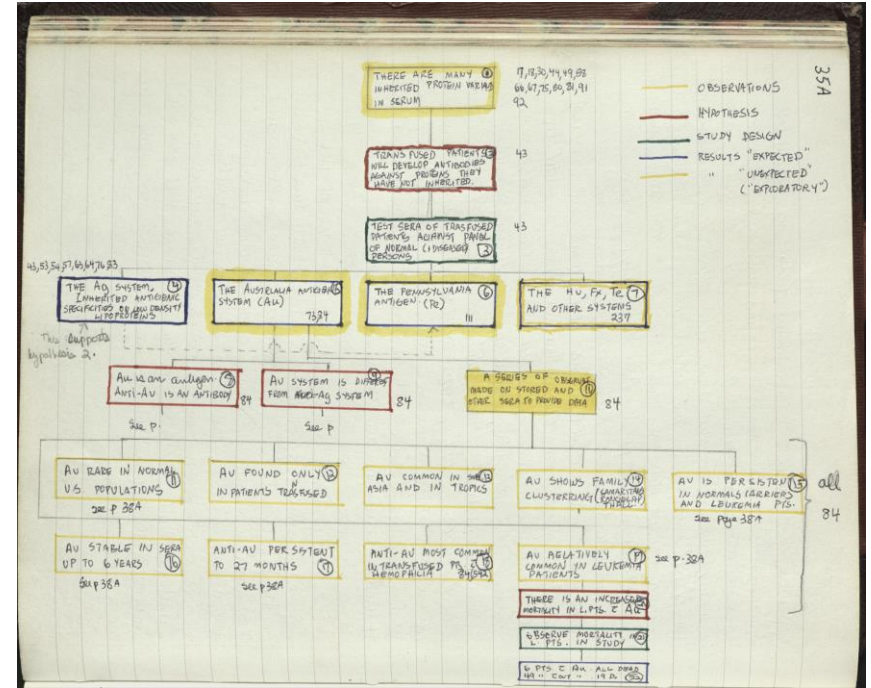
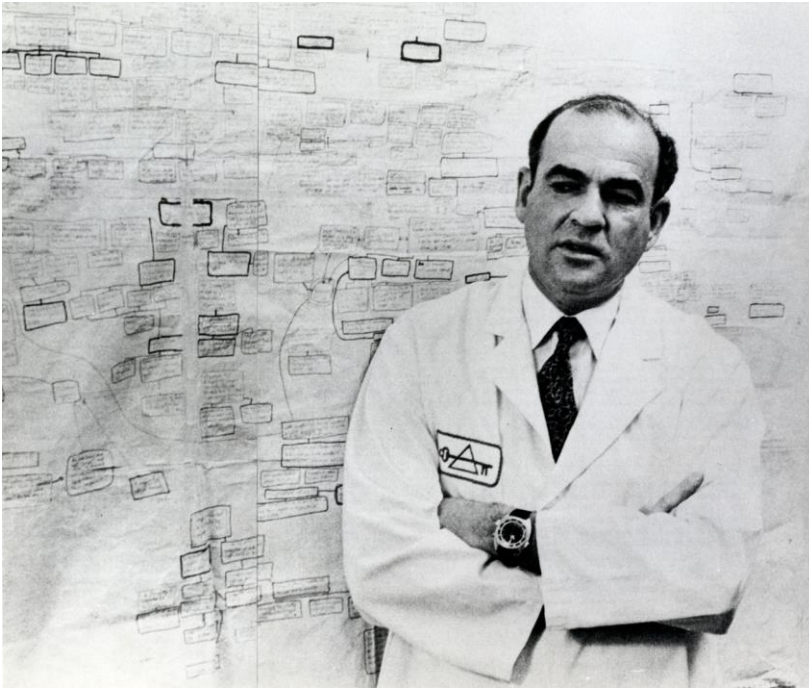
BLUMBERG'S TRAVELS RELATED TO THE PROTEIN SERUM PROJECT

- | | | |
|------------------|------------------------|---|
| (1) Alaska—1958 | (8) Iceland—1974 | (15) Singapore—1966 |
| (2) Mexico—1967 | (9) Denmark—1968 | (16) West Australia and Perth, Australia—1966 |
| (3) Ecuador—1960 | (10) Finland—1968 | (17) Cebu, Philippine Islands—1965, 1967 |
| (4) Chile—1960 | (11) Italy—1968 | (18) Japan—1965, 1966 |
| (5) Senegal—1976 | (12) Greece—1966, 1973 | (19) Marshall Islands—1959 |
| (6) Nigeria—1957 | (13) Uganda—1971 | |
| (7) England—1972 | (14) India—1966 | |



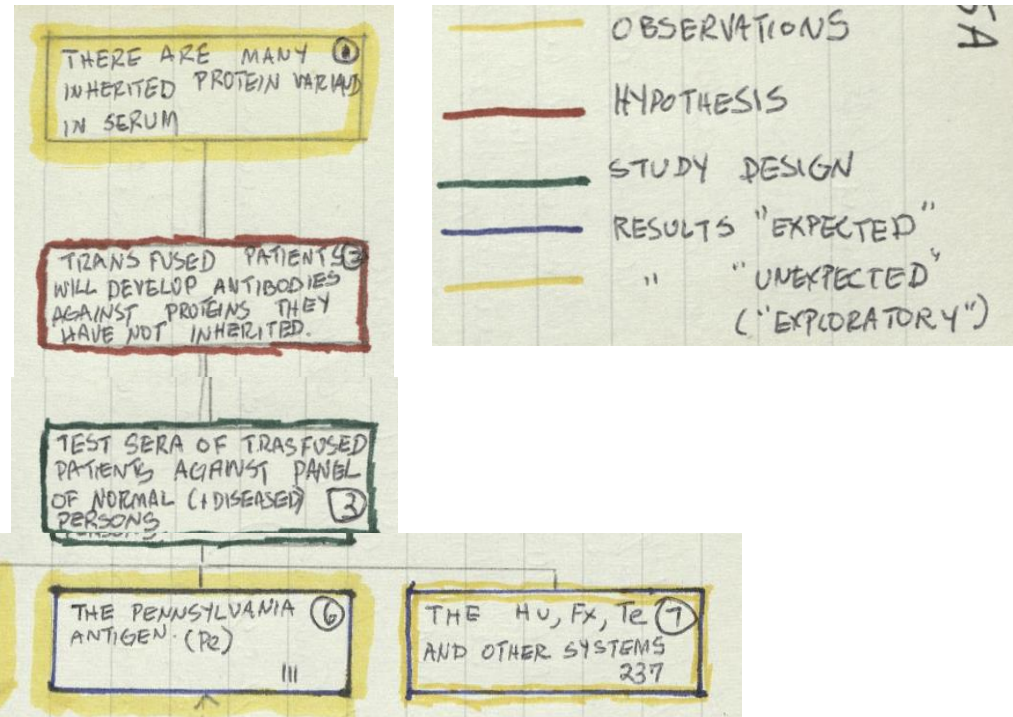
Blumberg'in Bilim Felsefesi

" Bilim aynı anda **hem problem çözme hem de problem yaratma sürecidir**. Bir soru her yanıtlandığında (etkili bir şekilde test edilen bir hipotez), daha sonra yanıtlanan ve yeni nesil sorular üreten ek sorular ortaya çıkar. **Süreç sonsuz olabilir.**"



Blumberg'in Bilim Felsefesi

- Bilimsel çabanın sürekliliği
- hipotezlerin formüle edilmesi
- Bir sonraki sonucun bir öncekinin tek nedeni olarak akıl yürütmenin tehlikeleri



43, 53, 54, 57, 63, 64, 76, 83

Hepatit B Aşısı

- 1970, Krugman,
hastların serumunu 1 dk kaynatıp Willowbrook'ta zihinsel engelli çocukları aşıladı.



Hepatit B Aşısı

- 1970, ilk hepatit B aşısı, AuAg'nine karşı antikor varlığının enfeksiyona karşı olacağı fikri ile hepatit B taşıyıcılarının serumundan elde edilmiştir.
- Blumberg ve Millman AuAg'yi saflaştırma ve onu bulaşıcı yapılardan ayırmada benzersiz bir yöntem geliştirdiler ve patentini aldılar.

The
hunt
for a
killer
virus

Hepatitis B

Baruch S. Blumberg

Winner of the Nobel Prize in Physiology or Medicine

3,636,191
VACCINE AGAINST VIRAL HEPATITIS
AND PROCESS
Baruch S. Blumberg, Glenside, and Irving Millman, Wil-
low Grove, Pa., assignors to The Institute for Cancer
Research, Philadelphia, Pa.
Filed Oct. 8, 1969, Ser. No. 864,788
Int. Cl. A61k 27/00
U.S. Cl. 424—89

United States Patent Office

9 Claims

Purification of Australia antigen

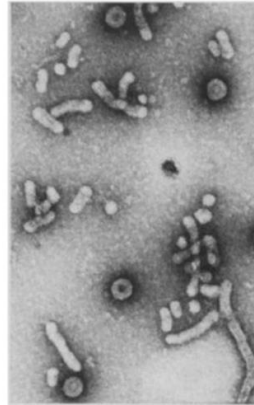
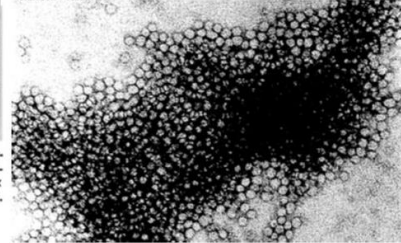


Fig. 1. Electron micrograph showing the several kinds of particles associated with hepatitis B virus (see Fig. 2). Magnification, $\times 90,000$. [Electron micrograph prepared by E. Halpern and L. K. Weng]

One of the important discoveries incident to the present invention is that Australia antigen is strongly resistant to enzyme digestion, whereas human blood cells and other plasma components can be reduced to peptides and removed without impairing the Australia antigen. In this operation it is believed that some of the infectious components are eliminated.

Another important aspect of the present invention is that impurities including infectious components can be eliminated from the Australia antigen fraction by differential density centrifugation, which can be carried out in a solution of cesium chloride, and preferably also in a separate solution of sucrose, the solvent in both cases being water.



The density of the cesium chloride gradient peak which contained the maximum radioactivity and Australia antigen immunodiffusion activity was 1.21 confirming the work of Alter and Blumberg, Blood 27, 297 (1966). The low density of purified Au(1) may be due to the lack of nucleic acids and/or the presence of lipids. The presence of lipids in Australia antigen has been suspected due to the staining reaction of Australia antigen precipitin bands. Alter and Blumberg, Blood 27, 297 (1966). It is contemplated that treatment of the purified Australia antigen by organic solvents or surface active agents may increase the density due to the removal of lipids.

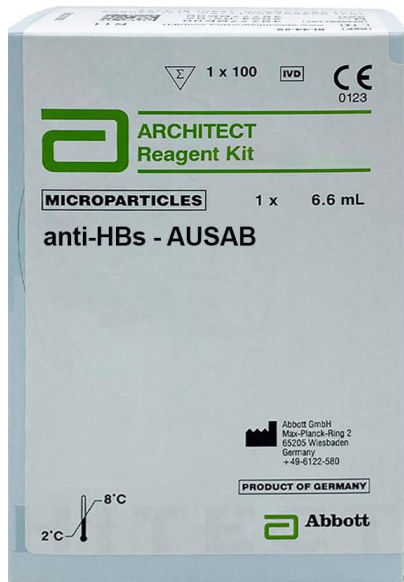
The chemical and physical properties of Au(1), the lack of nucleic acid, and the high concentrations found in the sera of patients with viral hepatitis indicate that the majority of Au(1) particles are incomplete viruses or capsids.

Avustralya antijeni – Antikor Testi (AuAb)

- 1974, ilk testler radyoaktif temelli **radioimmunoassay** temelli olarak geliştirildi.

> Zentralbl Bakteriol Orig A. 1974 Dec;229(4):423-8.

[The Ausab test – a radioimmunoassay in the solid phase for the detection of antibodies against HBsAg (author's transl)]



p32

Rosalyn Sussman Yalow



Avustralya antijeni (AuAg) → HBsAg

- 1973, Dünya sağlık örgütünün “Scientific group of viral hepatitis” adlı çalışma grubu bugün kullanılan terimleri kullanmaya başlamış.

JOURNAL OF VIROLOGY, Nov. 1973, p. 995-1005
Copyright © 1973 American Society for Microbiology

Vol. 12, No. 5
Printed in U.S.A.

DNA Polymerase Associated with Human Hepatitis B Antigen

PAUL M. KAPLAN, RICHARD L. GREENMAN, JOHN L. GERIN, ROBERT H. PURCELL, AND WILLIAM S. ROBINSON

Department of Medicine, Stanford University, Stanford, California 94305; the Rockville Laboratory of the Molecular Anatomy Program, Oak Ridge National Laboratory, Rockville, Maryland 20862; and the Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20014

Received for publication 9 July 1973

DNA polymerase activity was detected in each of eight preparations of concentrated human hepatitis B antigen (HBAG) rich in Dane particles prepared by high-speed centrifugation of antigen-positive human plasma and in none of seven control preparations prepared in the same way from HBAG-negative plasma. The incorporation of ³H-thymidine-methyl-5'-triphosphate into DNA was dependent on four deoxyribonucleoside triphosphates and MgCl₂. Treatment of the concentrated HBAG preparations with the nonionic detergent Nonidet P-40 (NP40) more than doubled the enzyme activity. Fractionation of the concentrated HBAG preparation in sucrose density gradients after treatment with NP40 revealed that the enzyme activity appeared within the density range of Dane core antigen but at a slightly higher density than the average for core antigen. The only particles observed by electron microscopy in this region of the gradient were typical 28-nm cores, suggesting that the DNA polymerase activity was associated with a subpopulation of cores. No DNA polymerase activity was found in purified 20-nm HBAG particles. The DNA product of the reaction remained associated with the 110S core and was not susceptible to DNase digestion when associated with the core. Inhibition of the reaction by actinomycin D and daunomycin suggested that the reaction was dependent on a DNA template associated with the core.

HBeAg / Anti-HBe

- 1980'li yıllarda; Hepatit B e-antijeninin (HBeAg) ve antikorun (anti-HBe) tespiti için katı-faz enzim bağı bir immünoassay geliştirilmiş.

Journal of Virological Methods, 3 (1981) 1–11
Elsevier/North-Holland Biomedical Press

1

DEVELOPMENT OF AN ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA) FOR HEPATITIS B e ANTIGEN AND ANTIBODY

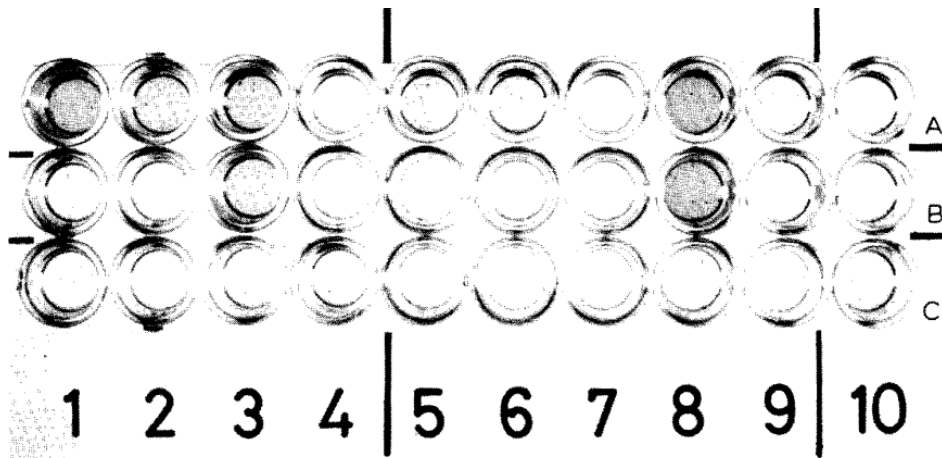


Fig. 3. Photograph of sera tested (columns 1–9 inclusive) by the ELISA. 50 μ l of serum and 50 μ l of HBeAg were added to well A. To wells B and C, containing 50 μ l NHS and 50 μ l anti-HBe respectively, 50 μ l of test serum were added. The first 4 sera were NHS (1 + 2), HBeAg-positive (3) and anti-HBe (4) controls. Sera 5–9 were tested. The wells of column 10 provided the cut-off reference colour. Interpretation of the results of sera 5–9 is described in the text.

Nobel Ödülü 1977

Baruch S. Blumberg

"Bulaşıcı hastalıkların kökeni ve yayılmasına ilişkin yeni mekanizmalarla ilgili keşifleri için."



Yaptığı keşifler, hastalığın kan nakli yoluyla yayılmasını **önleyecek aşıları ve testleri mümkün kıldı.**

Nobel Ödülü 1978

- Rosalyn Sussman Yalow,
Radioimmunoassay (RIA) tekniğini geliştirmesiyle bu ödülü kazanmıştır.



Nobel Ödülü 2020

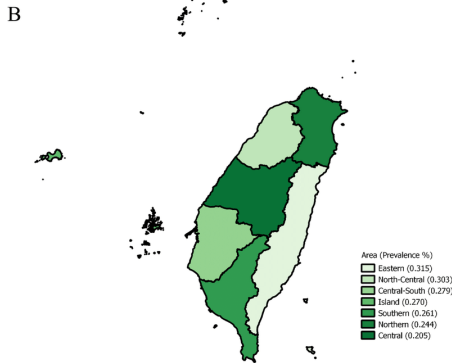
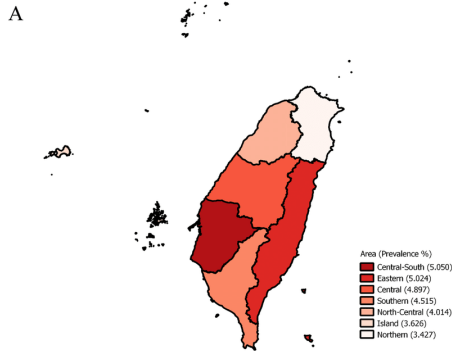
- Harvey Alter,
- Hepatit C virüsünün keşfine yaptığı katkılardan dolayı aldı



Ceremonial Presentation of the 2020 Nobel Prize in Physiology or Medicine to Dr. Harvey Alter.

Dünyanın ilk aşı programı

- 1982 yılında **Tayvan'ı ziyaret eden** Blumberg,
- *Taipei'deki büyük bir hastanenin kan bankası müdürü **hepatit B bulaşmış insanlardan alınan kanlarla dolu** büyük buzdolaplarını gösterdi ve **bunları ne yapalım diye sordu?***
- **Aşı yapın!**

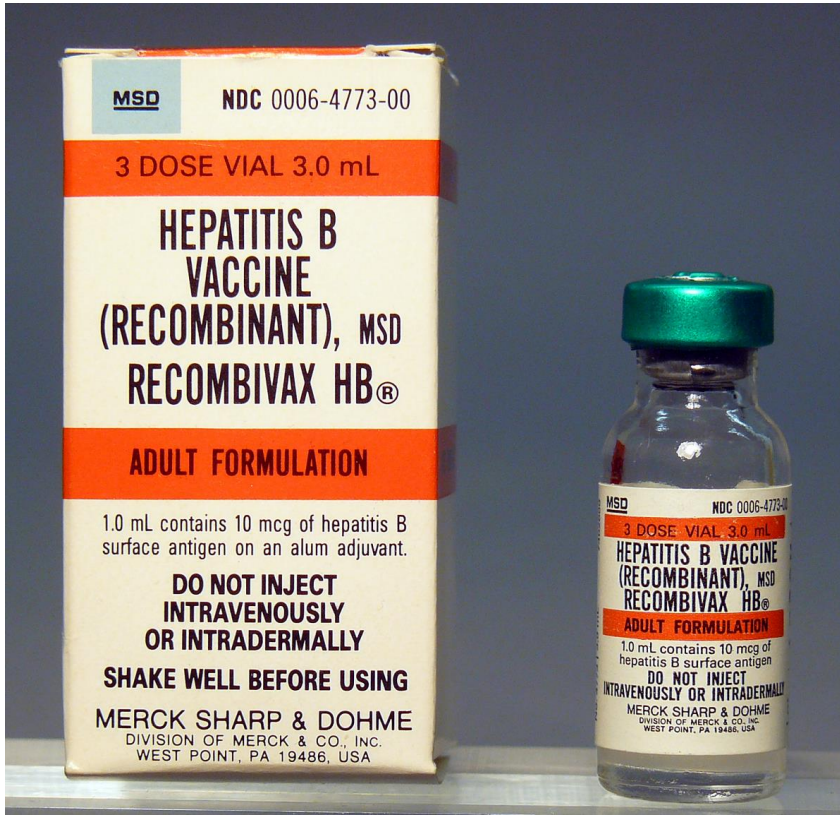


1984 yılında tüm yeni doğanlardan başlayarak hepatit B'ye karşı nüfus çapında bir aşılama programı uygulayan dünyadaki ilk ülke olmuştur.

O tarihten bu yana 6 yaş altı çocuklarda HBV taşıyıcılık oranı büyük oranda **%10,5'ten %0,8'in** altına düştü.

Dünyanın ilk aşı programı

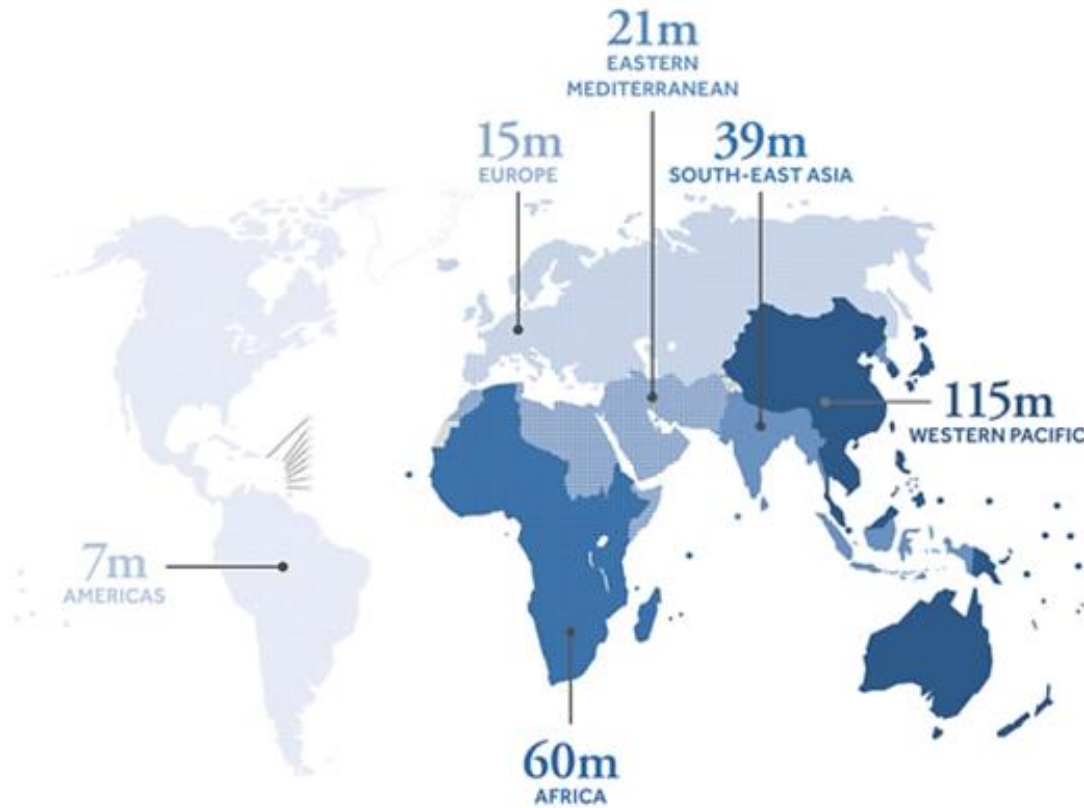
- Yeni tanıtılan **rekombinant DNA teknolojisi** ile genetik olarak değiştirilmiş maya hücrelerinden saf **HBsAg partikülleri** başarıyla üretti.



Rekombinant DNA teknolojisi
kullanılarak üretilen ilk aşı

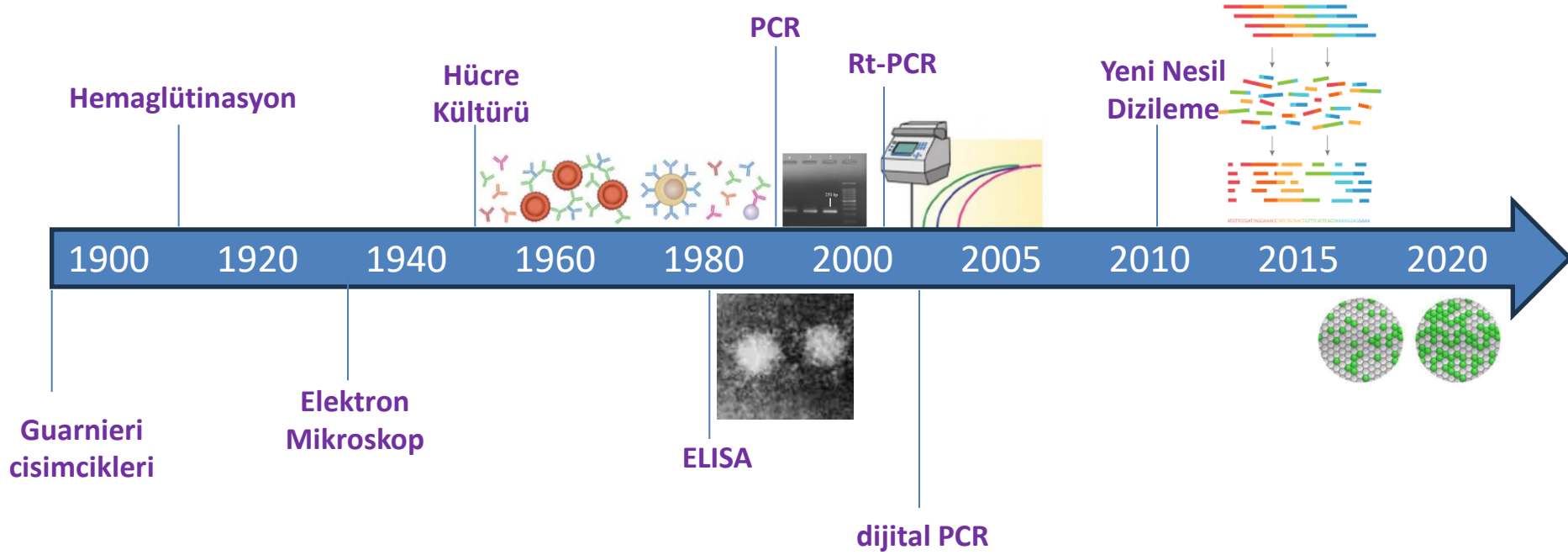
Hepatit B Enfeksiyonu Önlenemiyor

- Keşfedilmesinden yaklaşık **60 yıl** ve ilk aşının onaylanmasından **30 yıldan fazla bir süre geçmiş** olmasına rağmen **270 milyon** kişi enfekte.



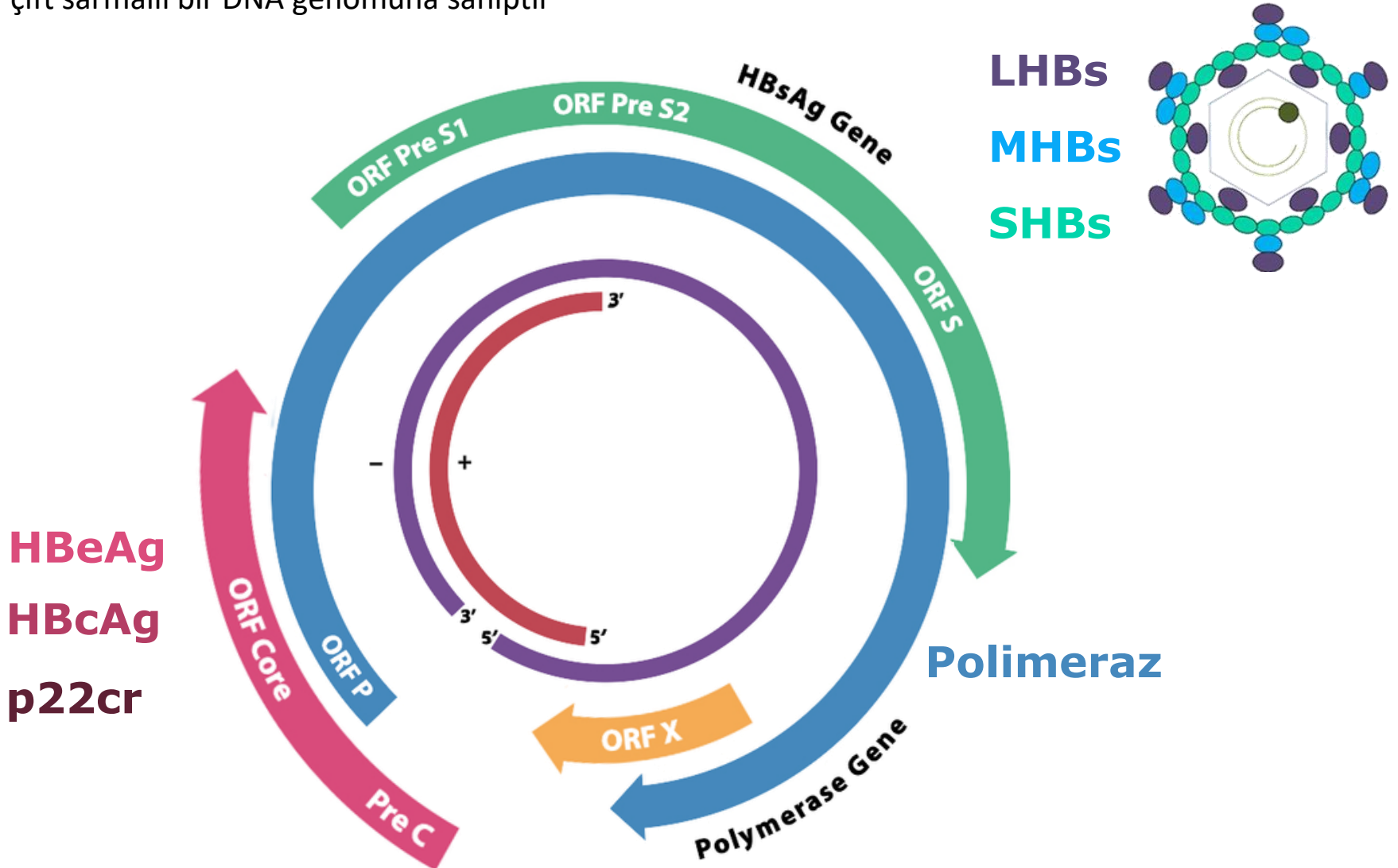
Hepatit B Virüsünün Mikrobiyolojik Tanısı

- Teknolojideki ilerlemeler ve HBV tanısında kullanıma girmeleri



Hepatit B Virüsü Genomu

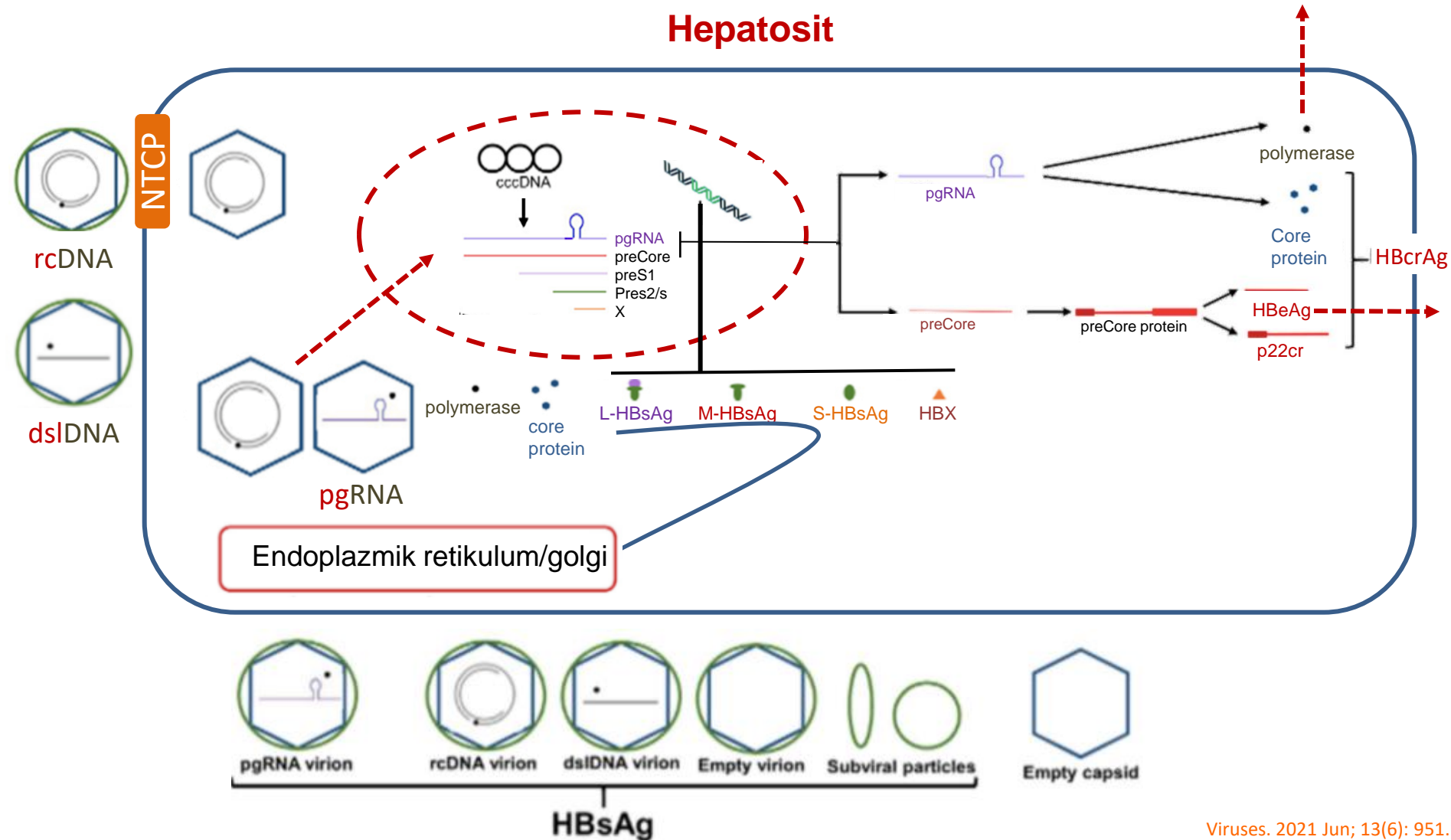
- HBV, örtüşen **dört açık okuma çerçevesi** halinde organize edilmiş yaklaşık **3200 baz çiftinden** oluşan çift sarmallı bir DNA genomuna sahiptir



Hepatit B Virüsü Tanı Hedefleri

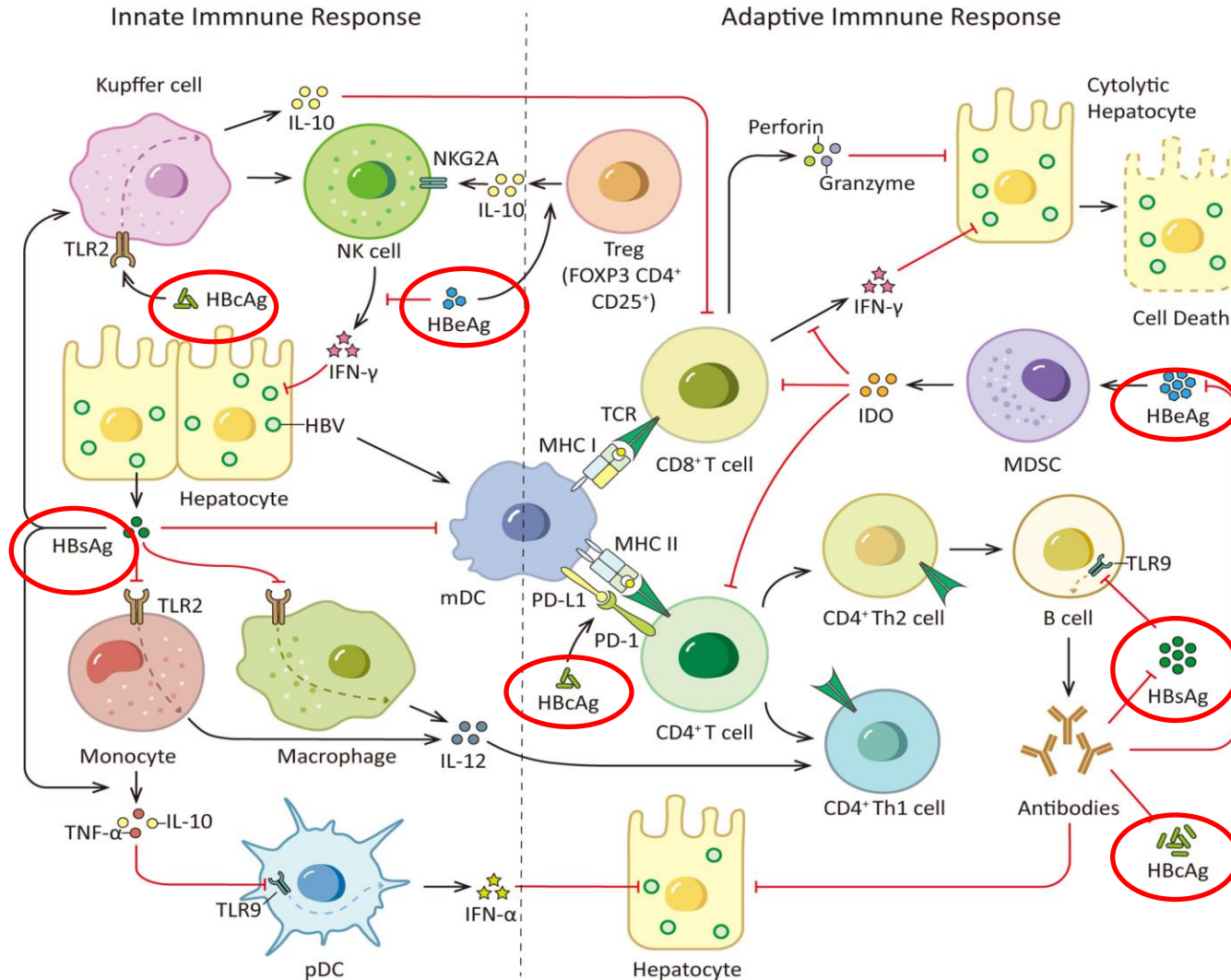
- Hastalığın ilerleyişinin / tedavinin ön görülebilmesi için tüm veriler birlikte değerlendirilmelidir.

Hepatosit



Hepatit B – Tanı için hedefler

- Hastalığın ilerleyişinin / tedavinin ön görülebilmesi için tüm veriler birlikte değerlendirilmelidir.



Hepatit B Virüsünün Mikrobiyolojik Tanısı

- 1980'li yıllardan itibaren

Enzyme Linked Immunosorbent Assay ELISA

HBsAg, Anti-HBs

HBeAg, Anti-HBe

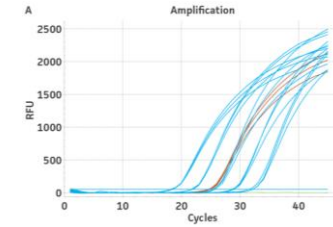
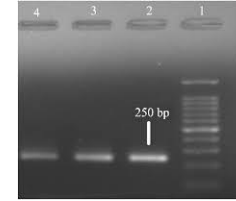
Anti-HBc IgM/IgG



Polymerase Chain Reaction PCR / Real time - PCR

HBV-DNA

Kantitatif HBV-DNA



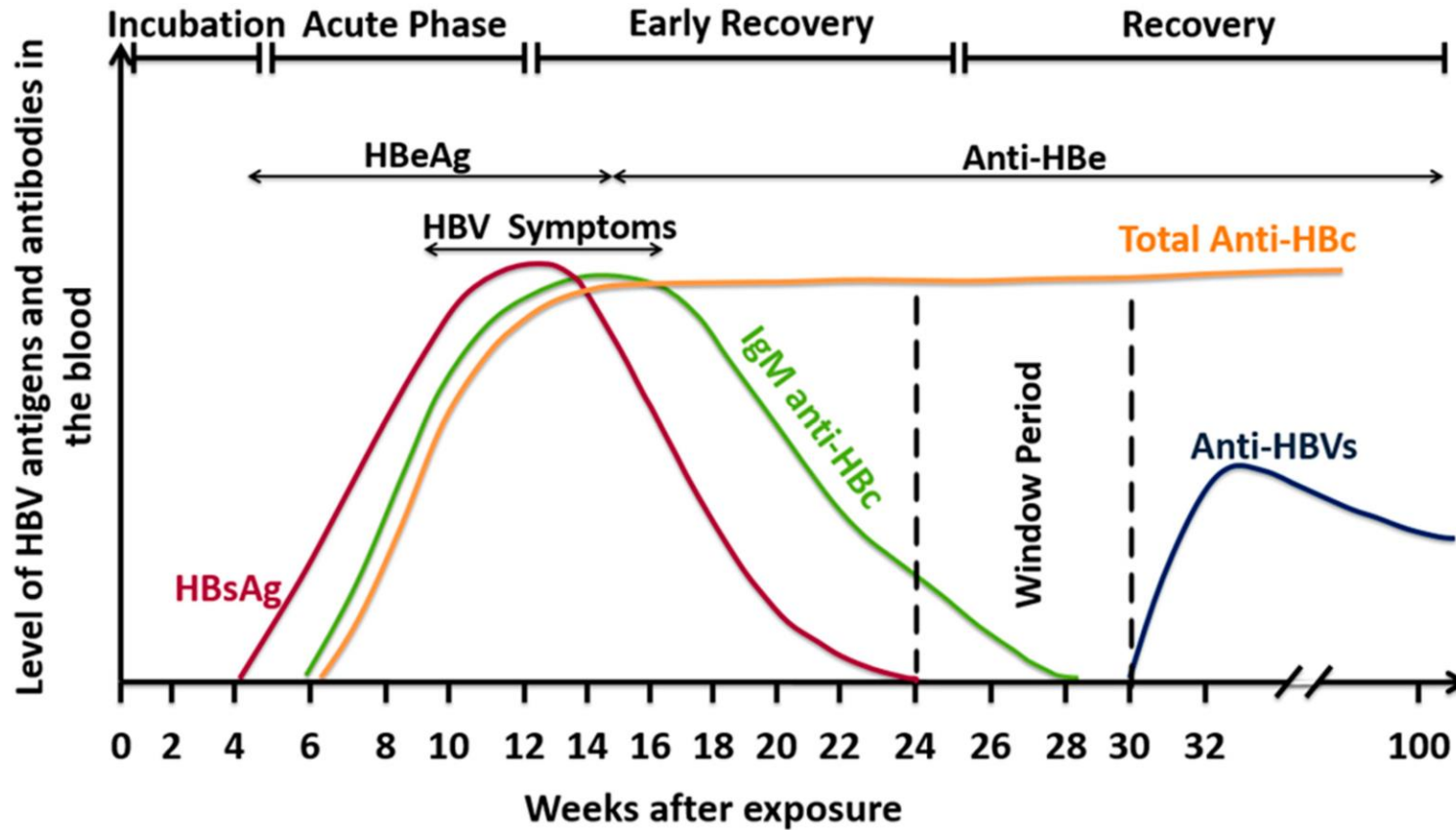
HBV Serolojik Tanı

- Günümüzde tam otomatize **mikro ve makro ELISA cihazları** ile serolojik tanı hızlı, duyarlı ve güvenilir bir şekilde yapılabilmektedir.



HBV Serolojik Tanı

- Serolojik parametrelerin izlenmesi



HBV Serolojik Tanı – Kantitatif HBsAg

- Kantitatif HBsAg testleri

- Kantitatif HBsAg, **cccDNA** aktivitesini gösterir.
- HBsAg seviyesi yakın zamanda **HCC risk skorlarına** dahil edilmiştir.
- İnterferon ve oral antiviral tedavi alan **hastaların takibinde** önemli bir parametredir.
- **qHBsAg ve HBV-DNA tanı ve tedavi takibinde** birbirlerini tamamlayıcıdır.

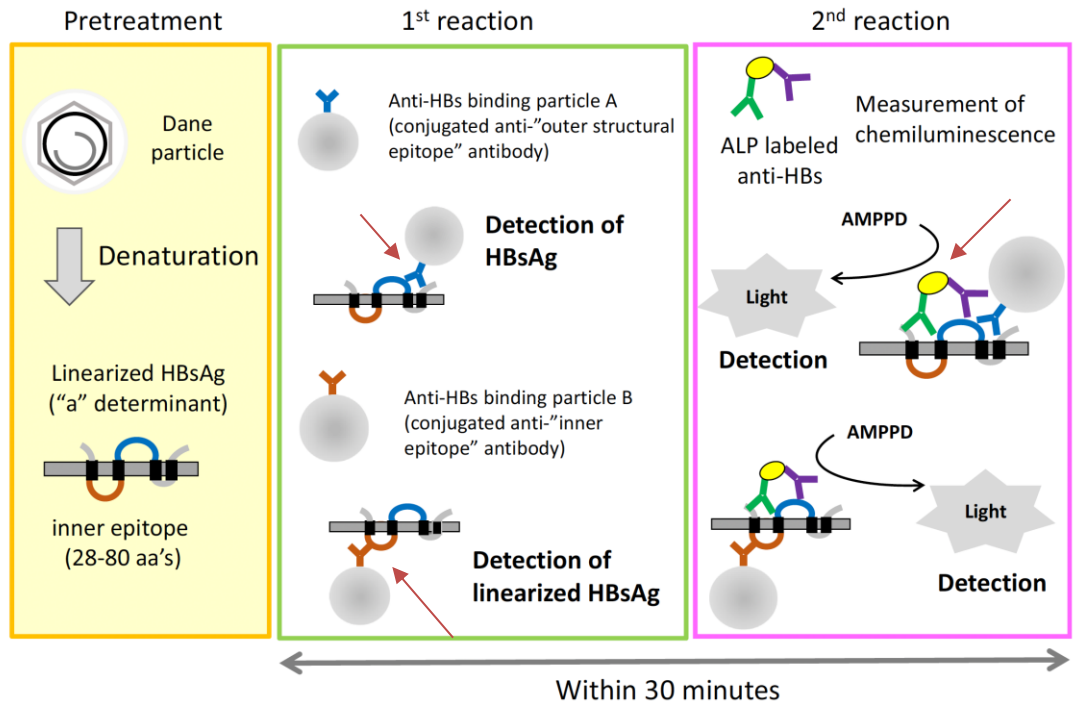
Hepatit B test kiti Lumipulse® G HBsAg-Quant

CLIA (ChemiLuminescent Enzyme Immunoassay)



HBV Serolojik Tanı – Daha duyarlı HBsAg

- High-sensitive HBsAg assay
- Lumipulse HBsAg-HQ [HBsAg-HQ]
HBsAg-HQ testinin duyarlılığı (0,005 IU/mL), geleneksel HBsAg testlerinin duyarlılığından yaklaşık 6 kat daha fazladır.
- HBsAg-HQ testinin HBsAg/anti-HBs antikor komplekslerinin yanı sıra Dane partiküllerinden 10.000-1.000.000 kat daha sık bulunan küçük S proteinlerini de tespit edebilmesidir

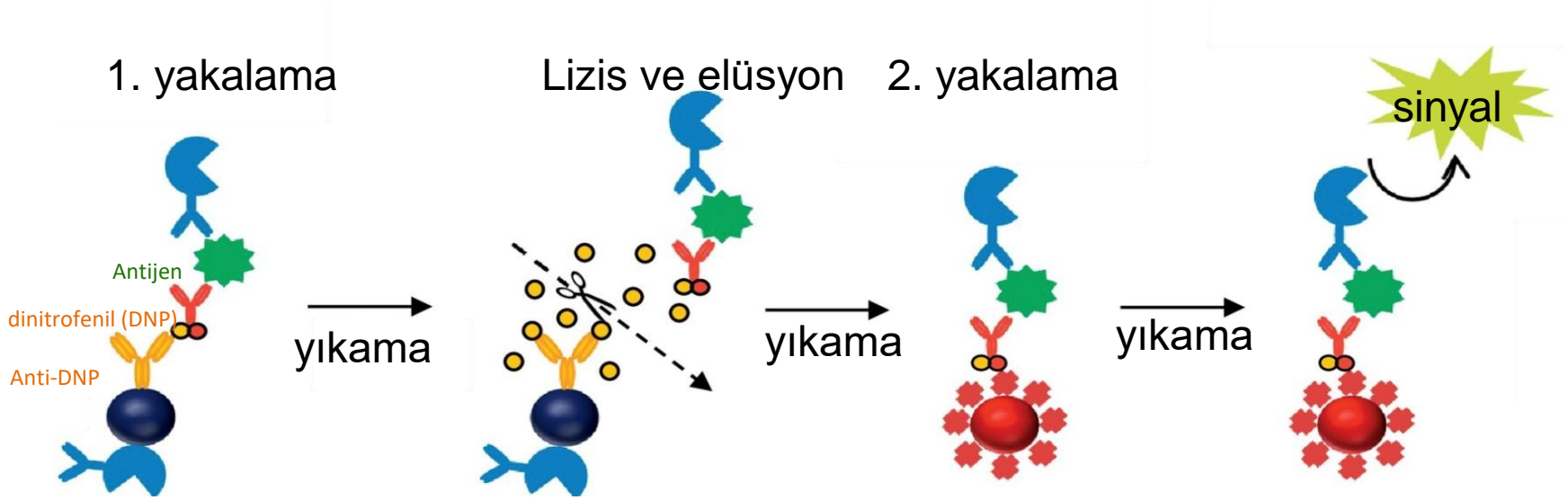


HBV Serolojik Tanı – Daha da duyarlı HBsAg

- Ultra-High-sensitive HBsAg assay
- Immune complex transfer enzyme immunoassay (ICT-EIA)

Spesifik antijenleri veya antikörleri tespit etmek için **oldukça duyarlı** bir teşhis tekniğidir.

100 kat daha yüksek hassasiyete



HBV Serolojik Tanı – Daha da duyarlı HBsAg

- Ultra-High-sensitive HBsAg assay
- HBV DNA kadar duyarlı olan ICT-CLEIA HBsAg testi
- HBV reaktivasyonu olan 12 hastadan HBV-DNA ölçülebilir olduğunda,
 - HBsAg-Q (LOD, 50 mIU/mL) hastaların %8'inde,
 - HBsAg-HQ (LOD, 5 mIU/mL) %33'ünde ve
 - ICT-CLEIA (LOD, 0,5 mIU/mL) hastaların %100'ünde HBsAg saptamıştır.
- Dikkat çekici bir şekilde, HBV-DNA tespit edilemeyen 2 hasta ICT-CLEIA ile HBsAg pozitif bulunmuştur.

Table 3. Detectable rate of HBsAg by each assay according to HBV DNA status

	Patients at timepoint when HBV DNA was undetectable	Patients at first timepoint when HBV DNA was detectable (< 2.1 log copies/ml)	Patients at first timepoint when HBV DNA was quantifiable (≥ 2.1 log copies/ml)
HBsAg-QT	0% (0/13)	8% (1/13)	8% (1/12*)
HBsAg-HQ	8% (1/13)	8% (1/13)	33% (4/12*)
ICT-CLEIA	15% (2/13)	54% (7/13)	100% (12/12*)

*HBV DNA was quantifiable in 12/13 patients.

HBV Serolojik Tanı – Daha duyarlı HBsAg

- Ultra-High-sensitive HBsAg assay
- iTACT-HBsAg (Fujirebio) (0,5 mIU/mL) başka bir ultra hassas HBsAg testidir.
- HBsAg + anti-HBs = Toplam HBsAg →

anti-HBs pozitif olan KHB hastalarının %53'ünde (39/73) HBsAg'yi tespit edebilmiştir.



aslında faydalı olabilir

**assay for total hepatitis B
antigen complexed with hepatitis B surface**

**Yamamoto³ · Shuhei Nishiguchi⁴ ·
Yamamoto² · Katsumi Aoyagi^{2,6} ·**

HBV Serolojik Tanı – HBcrAg

- Hepatitis B core-related antigen (HBcrAg)
 - Duyarlı, kolay uygulanabilir, ucuz bir tanı testleri üretilmiştir.
 - Hedef aynı **promotörün kontrol altında** precore / core gen ürünleri
HBcAg, HBeAg ve p22cr den oluşan → HBcrAg



HBV Serolojik Tanı – HBcrAg

- Hepatitis B core-related antigen (HBcrAg)

- HBcrAg >2.9 log U/ ml olduğunda HCC gelişim riskinin belirgin artış gösterdiği

(KHB hastalarında HCC gelişim riski açısından HBV DNA titresinden daha değerli bir gösterge olduğu gösterilmiştir .

- HBV-DNA negatifleştğinde;

HBcrAg düzeyi $>3,4$ log U/mL olan hastalarda 1, 3 ve 5 yıllık kümülatif HCC insidansının sırasıyla %0,0, %13,6 ve %17,7;

HBcrAg düzeyi $<3,4$ log U/mL olan hastalarda ise sırasıyla

%0,0, %0,0 ve %2,4 olduğunu bildirmiştir (P $<.0005$).

Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- 1970'ler radyoaktif işaretli **hibridizasyon problemlerinin** keşfi

MOLECULAR HYBRIDIZATION OF RADIOACTIVE DNA TO THE DNA OF CYTOLOGICAL PREPARATIONS

BY MARY LOU PARDUE AND JOSEPH G. GALL

KLINE BIOLOGY TOWER, YALE UNIVERSITY

Communicated by Norman H. Giles, August 13, 1969

Abstract.—A method is presented for detecting the cellular location of specific DNA fractions. The technique involves the hybridization of a radioactive test

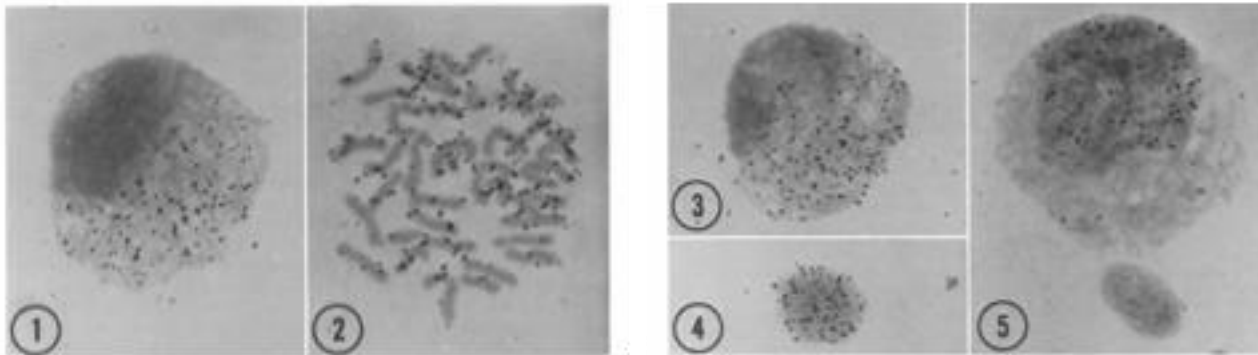


FIG. 1-4.—Autoradiographs of nuclei from the ovary of the toad *Xenopus* after cytological hybridization with radioactive *Xenopus* DNA which lacked the ribosomal cistrons. The DNA of these squash preparations was denatured *in situ*. The slide was then incubated with a solution of radioactive test DNA from which the rDNA had been removed by separation on a CsCl density gradient. The specific activity of the test DNA was 130,000 cpm/ μ g. The slides were stained with Giemsa.

Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- 1982, HBV-DNA'nın serumda tespiti

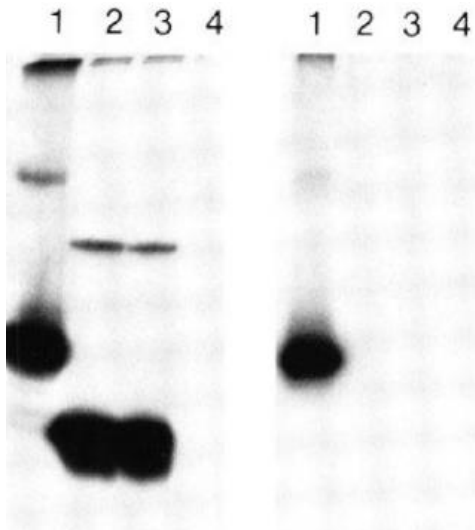
J Med Virol. 1982;9(4):273-80.

The detection of HBV-DNA in serum by molecular hybridisation: a more sensitive method for the detection of complete HBV particles.

Weller IV, Fowler MJ, Monjardino J, Thomas HC.

Abstract

Existing methods for detecting complete virus particles in the serum of patients with chronic HBV infection are either insensitive or indirect. A method is described in which Dane particle-associated DNA is extracted from a small volume of serum and detected by molecular hybridization using ³²P-labeled cloned HBV-DNA or HBV-DNA extracted from the serum of an immunosuppressed patient, followed by autoradiography and densitometry. There was a positive correlation between the amount of HBV-DNA detected using HBV particle-derived and cloned HBV-DNA probes. The amount of HBV-DNA detected in serum samples showed a positive correlation with the HBV-DNA polymerase. The method was more sensitive than the DNA polymerase and HBeAg assays in detecting complete virus particles. It may be useful in determining the level of infectivity in patients and in monitoring response to antiviral therapy.

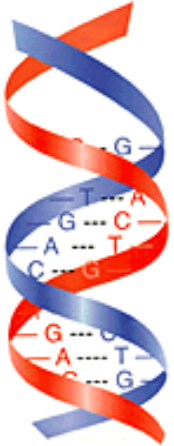


Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- 1988, Polymerase Chain Reaction (PCR)

The Nobel Prize in Chemistry 1993

The Royal Swedish Academy of Sciences awards this year's Nobel Prize in Chemistry to



Kary B. Mullis
USA, for his invention of the
polymerase chain reaction (PCR)
method



tanısal moleküler
mikrobiyoloji

Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- 1988, Polymerase Chain Reaction (PCR)

Detection of Hepatitis B Virus DNA in Serum by Polymerase Chain Reaction

Application for Clinical Diagnosis

SHUICHI KANEKO, ROGER H. MILLER,
ADRIAN M. DI BISCEGLIE, STEPHEN M. FEINSTONE,
JAY H. HOOFNAGLE, and ROBERT H. PURCELL

Hepatitis Viruses Section, Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases; and Liver Diseases Section, Digestive Diseases Branch, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland

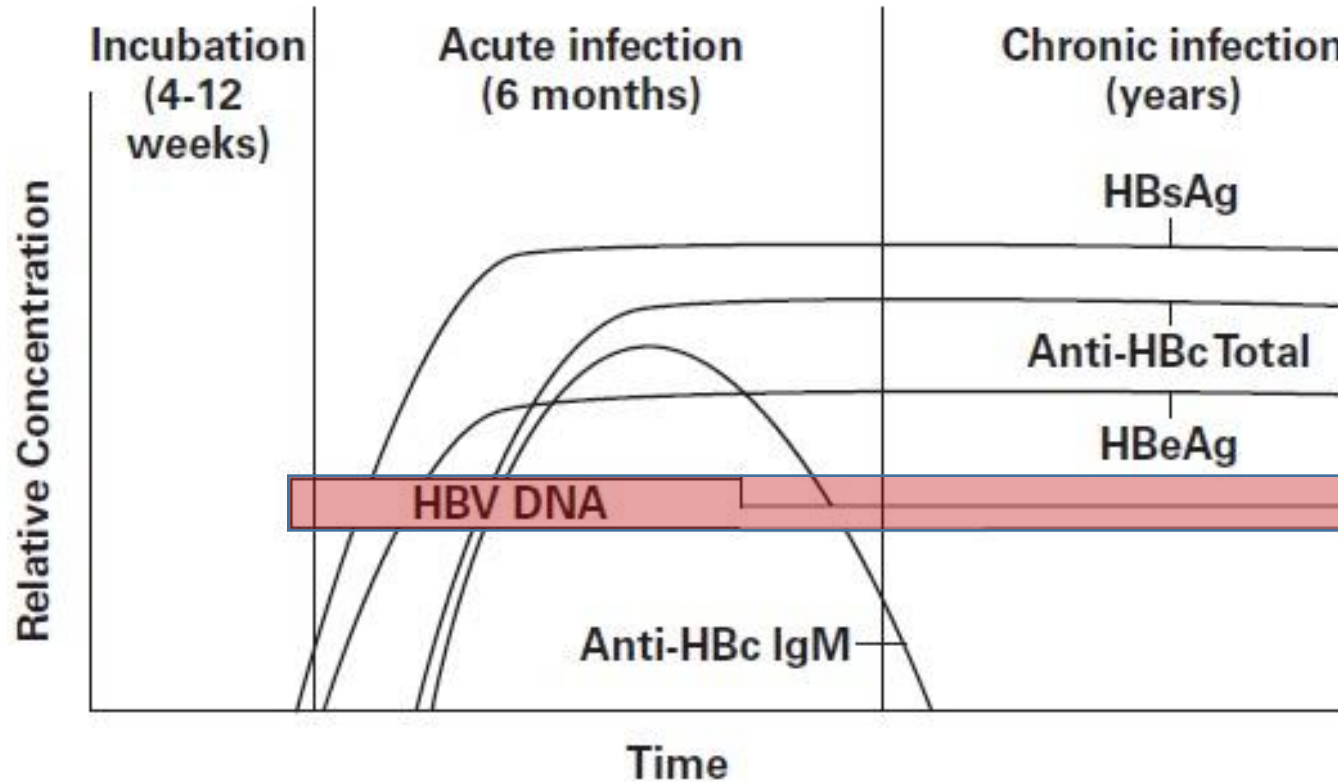
Table 2. Clinical Diagnosis and Serum Hepatitis B Virus DNA Detection by the Polymerase Chain Reaction Analysis

Group	Diagnosis	No. of patient	HBsAg	HBeAg	DNA polymerase	Slot blot hybridization	PCR		
					+	+	++	+	-
A	Chronic hepatitis B	16	+	+	14	15	14	2	0
B	Chronic hepatitis B	25	+	-	1	10	5	11	9
C	Recovered chronic hepatitis B	11	-	-	0	0	0	3	8
D	Recovered acute hepatitis B	6	-	-	0	0	0	0	6
E	Chronic non-A, non-B hepatitis	9	-	-	0	0	0	0	9
F	Vaccinated against HBV	12	-	-	0	0	0	0	12
G	Non viral hepatitis or healthy	5	-	-	0	0	0	0	5

NOTE. Group C patients had had chronic hepatitis B with HBsAg in serum but during follow-up evaluation had become HBsAg-negative and had antibody to HBsAg (anti-HBs), HBeAg (anti-HBe), and HBe antigen (anti-HBc). Group D patients tested positive for anti-HBs, anti-HBe, and anti-HBc. Group F patients tested positive for anti-HBs and negative for anti-HBe and anti-HBc. The HBV DNA detected by PCR was judged as strongly positive (++) or weakly positive (+) after detection by a single or double PCR amplification, respectively.

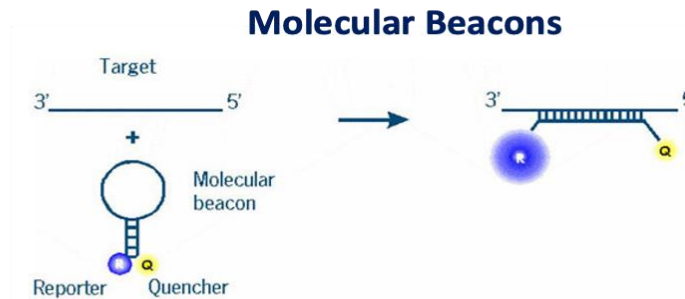
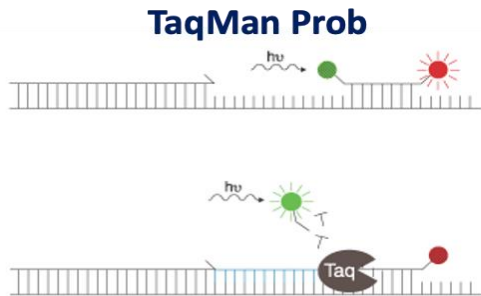
Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- HBV-DNA tanı algoritmalarına eklendi



Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- **Kantitatif HBV-DNA**
 - NASBA (nucleic acid sequence based amplification)
 - Branch DNA
 - Hybrid Capture
 - *Real-Time PCR*



FRET
(Floresans rezonans enerji transfer)



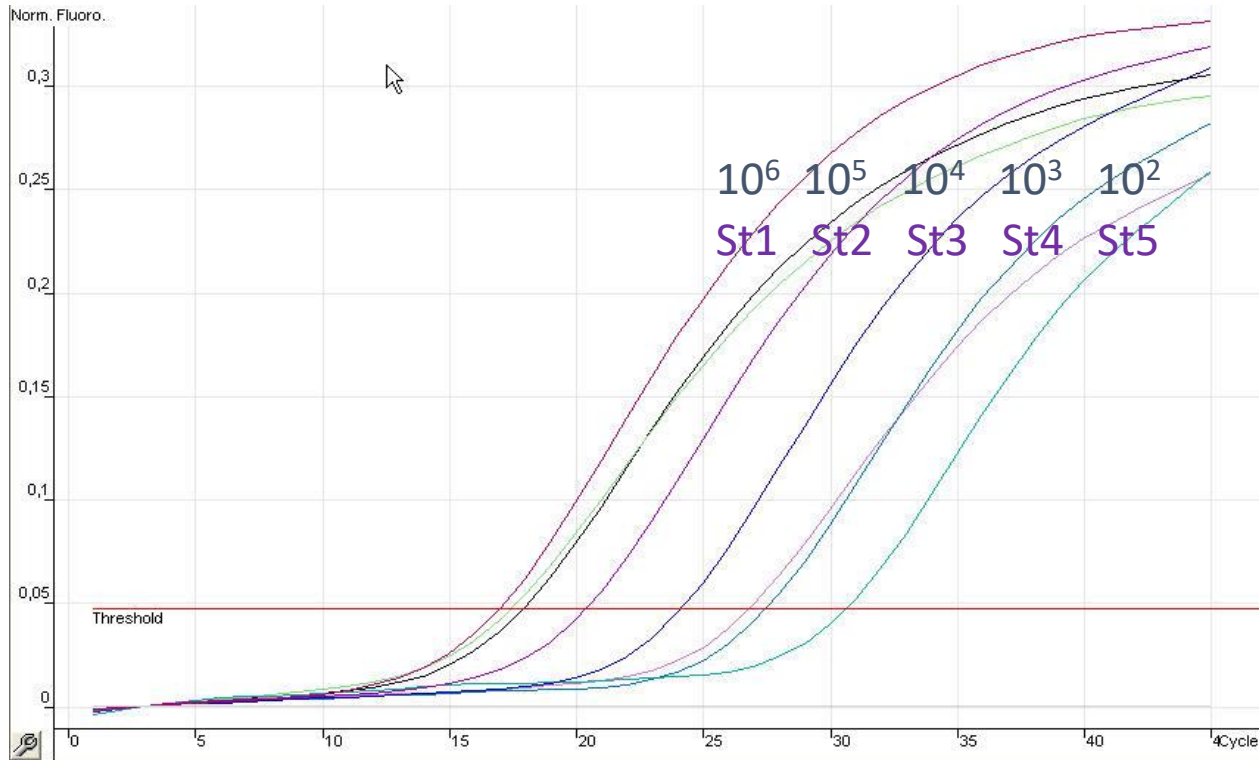
Scorpions Prob



Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

- Kantitatif HBV-DNA

- Mutlak Kantitasyon



Moleküler Tanı Yöntemlerinin Gelişimi

İsim	Kopya/ml		IU/ml
2120273-İlhan Arkan	negatif	negatif	negatif
0481 Hülya Altınbaş	5.433	5,4E+03	7,8E+02
0053 Mustafa Çan	negatif	negatif	negatif
0193 Neemive Karaca	591	5,9E+02	8,4E+01
0034 Cüzzün Çimert	negatif	negatif	negatif
0214 Sümeyra Aslan	negatif	negatif	negatif
0517 Deniz Baskiran	negatif	negatif	negatif
0065 Elif Aleyra Barut	negatif	negatif	negatif
0064 Esra Polat	32.562.423	3,3E+07	4,7E+06
0933 Yılmaz Çetinkaya	34.334.192	3,4E+07	4,9E+06
1082 Emine Aras	negatif	negatif	negatif
2062 Fatih Hilmioğlu	negatif	negatif	negatif
1784 Özür Telli Doğan	negatif	negatif	negatif
8791 Aygül Kocuman	negatif	negatif	negatif
1769 Bahadır Kaplan	negatif	negatif	negatif

Öneriler

- Tüm **HBeAg pozitif veya negatif kronik hepatit B hastaları**; HBV DNA $>2,000$ IU / ml, ALT normalin üst sınırının üstündeyse ve/veya en az orta düzey (moderate) karaciğer nekroinflamasyonu veya fibrozisi var ise tedavi edilmelidir (**Kanıt düzeyi I, öneri derecesi 1**).
- **Sirozu olan** hastalarda herhangi bir HBV DNA seviyesi tespit edilir ise ALT seviyelerine bakılmaksızın (**Kanıt seviyesi I, öneri 1**), tedavi edilmelidir.
- HBV DNA $>20,000$ IU / ml ve ALT normalin üst sınırının iki katı üstündeyse fibrozis derecesine bakılmaksızın tedaviye başlanmalıdır (**Kanıt seviyesi II-2, öneri 1**).
- **HBeAg-pozitif kronik HBV** enfeksiyonu olan ve 35 yaşından büyük hastalar, sürekli olarak **normal ALT** düzeyi saptansa da **yüksek HBV DNA düzeyleri söz konusu** ise karaciğer histolojik lezyonlarının ciddiyetine bakılmaksızın tedavi edilmelidir (**Kanıt seviyesi III, öneri 2**).

Öneriler

- 30 yaşından küçük **HBeAg-pozitif kronik HBV enfeksiyonu olan** ve tedavi endikasyonlarını tam olarak sağlamayan hastalar 3-6 aylık dönemler halinde takip edilmelidir (**Kanıt seviyesi II-2, öneri düzeyi-1**)
- **HBeAg-negatif** kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda ve serum HBV DNA düzeyi <2000 IU/ml ise ve tedavi endikasyonlarına uymuyorsa **6-12 aylık dönemler halinde takip edilmelidir** (**Kanıt seviyesi II-2, öneri düzeyi-1**)
- **HBeAg-negatif** kronik HBV enfeksiyonu olan hastalarda ve serum HBV DNA düzeyi ≥ 2000 IU/ml ise ve tedavi endikasyonlarına uymuyorsa **ilk yıl 3 ayda bir, sonraki yıllar 6 aylık dönemler halinde takip edilmelidir** (**Kanıt seviyesi III, öneri düzeyi-1**)

Öneriler

- NA ile tedavi edilen tüm hastalar **ALT ve serum HBV DNA düzeyleri** ile takip edilmelidir. (Kanıt seviyesi I, öneri düzeyi-1)
- HBeAg negatif **genotip D** ise, 12 haftalık pegINF-alfa tedavisinden sonra serum **HBV DNA düzeyinde 2 log** ve HBsAg düzeylerinde düşüş olmamış ise tedaviye cevap alınamadı anlaşılır ve tedavi sonlandırılır.
- **HBV DNA >200 IU/ml** düzeyinde virüse maruz kalmaya eğilimli işler yapan sağlık çalışanları virüsün iletimini engellemek için NA analogları ile tedavi alabilir.
- Serum **HBV DNA düzeyi >200.000 IU/ml olan** veya **HBsAg düzeyi 4 log₁₀ IU/ml olan** tüm hamilelerde, hamileliğin 24-28. Haftasından itibaren **TDF başlanmalıdır** ve doğum sonrası 12. Haftaya kadar devam etmelidir.

Öneriler

- Bulaşma Riski?
- HBV'nin minimum enfeksiyöz dozunun 15 IU/mL olduğunu ileri sürülmektedir.
- Mevcut HBV DNA PCR analizlerinin alt tespit limiti (10 IU/mL), kan ve organ bağışi bağlamında bu virüs seviyesini tamamen dışlamak için çok yüksektir.
- Yüksek duyarlılığa sahip HBsAg testlerinin tespit sınırı 0,05 IU/mL 'dir ve bu değer 4 IU/mL HBV DNA'ya karşılık gelmektedir.

HBV Tanısında Ayın Karanlık Yüzü

- Kronik Hepatit B'nin tanısında, hastalığın prognozunun ve tedaviye yanıtın izlenmesinde, aynı biyobelirteçler **yaklaşık 40 yıldır** kullanılmaktadır.



HBsAg

Anti-HBs

HBeAg

Anti-HBe

Anti-HBc

HBV-DNA

HBV-RNA

HBV-cccDNA

HBV-dsDNA

HBV-intDNA

Hepatit B Virüsünün Genomunun Diğer Formları

- Virüsün pgRNA, dsIDNA, cccDNA ve intDNA formları günümüz rutin virolojik tanı ve tedavi algoritmalarında yer almamaktadır.



pgRNA

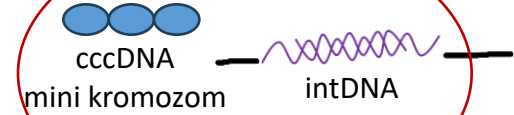


dsIDNA



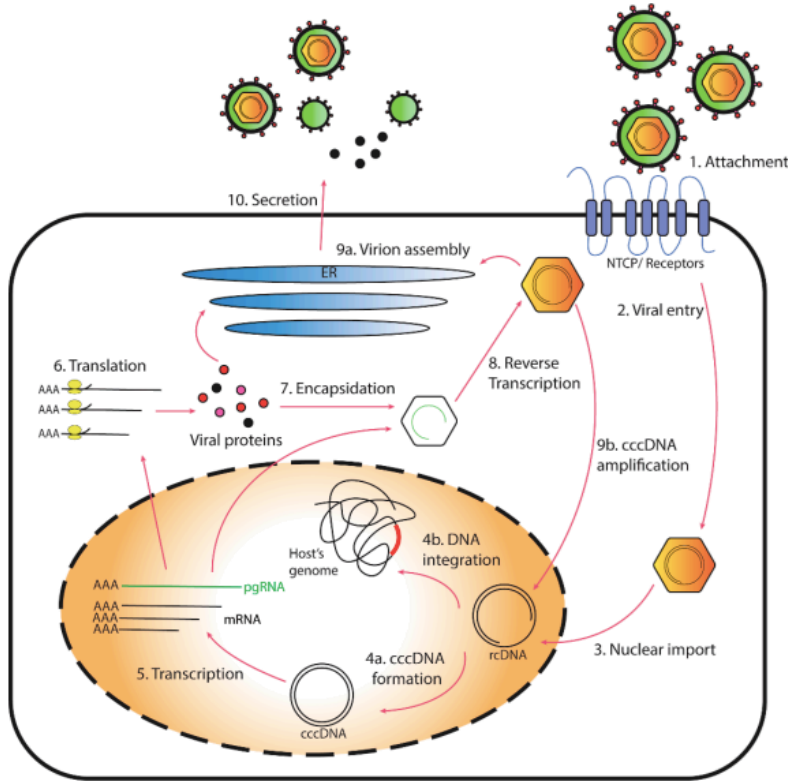
Boş virion

Hepatosit

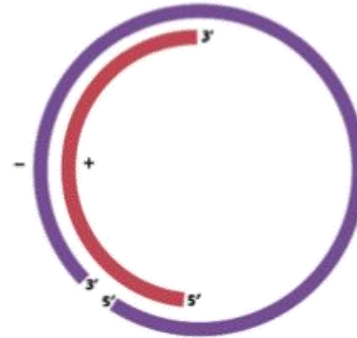


cccDNA Tespiti

- HBV- cccDNA PCR ile gösterilebilir mi?
- T5 eksonükleaz ile hücresel DNA'yı ve viral DNA'nın tüm cccDNA olmayan formlarını verimli bir şekilde ortadan kaldırırken, cccDNA bozulmadan kalır ve PCR ile güvenilir bir şekilde ölçülebilir.



T5 Eksonükleaz, DNA'yı 5' ile 3' yönünde yıkar. dsDNA'nın boşlukları ve çentiklerinden DNA bağlanarak degrade eder.



cccDNA Tespiti

- İntrahepatic cccDNA kopya sayısı HCC olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek.

Quantitative intrahepatic HBV cccDNA correlates with histological liver inflammation in chronic hepatitis B virus infection



Ling-Bo Liang^{a,b}, Xia Zhu^a, Li-Bo Yan^a, Ling-Yao Du^a, Cong Liu^a, Juan Liao^a, Hong Tang^{a,*}

^a Center of Infectious Disease, State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, West China School of Medicine, Sichuan University, 37# Guoxue Lane, 610041 Chengdu, China

^b Division of General Practice, West China Hospital, West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 May 2016

Accepted 19 September 2016

Corresponding Editor: Eskild Petersen, Aarhus, Denmark.

Keywords:

Hepatitis B virus

Covalently closed circular DNA

Rolling circle amplification

Histological liver inflammation

SUMMARY

Background: The aim of this study was to determine the role of baseline hepatitis B virus (HBV) forming covalently closed circular DNA (HBV cccDNA) in liver inflammation in patients infected with HBV with serum alanine aminotransferase (ALT) levels under two times the upper limit of normal ($2 \times$ ULN).

Methods: After liver biopsy and serum virological and biochemical marker screening, patients diagnosed with chronic HBV infection with serum ALT levels under $2 \times$ ULN and histological liver inflammation of less than grade G2 were prospectively recruited into this study. Recruitment took place between March 2009 and November 2010 at the Center of Infectious Disease, Sichuan University. Patient virological and biochemical markers, as well as markers of liver inflammation, were monitored.

Results: A total of 102 patients were recruited and 68 met the inclusion criteria; the median follow-up was 4.1 years (range 3.9–5.2 years). During follow-up, 41 patients (60.3%) exhibited signs of inflammation. Baseline HBV cccDNA >1 copy/cell (odds ratio 9.43, $p = 0.049$) and liver inflammation grade \geq G1 (odds ratio 5.77, $p = 0.046$) were both independent predictors of liver inflammation.

Conclusions: A higher baseline intrahepatic HBV cccDNA level may increase the risk of liver inflammation. Further investigations will be required to validate HBV cccDNA as an intrahepatic virological marker of patients who require extended outpatient management.

© 2016 The Authors. Published by Elsevier Ltd on behalf of International Society for Infectious Diseases. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

cccDNA Tespiti

- Yapılan çalışmalar **serum cccDNA düzeylerinin** $\leftarrow \rightarrow$ **intrahepatik cccDNA düzeyleriyle** pozitif korelasyon gösterdiğini bildirmiştir.
- **Serumda cccDNA'nın ortaya çıkması**, karaciğer hasarının erken bir sinyalıdır ve bu da bir başka önemli klinik parametre olabilir.

P.O.Box 2345, Beijing 100023,China
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wjg@wjgnet.com www.wjgnet.com

World J Gastroenterol 2004;10(1):82-85
World Journal of Gastroenterology
Copyright ©2004 by The WJG Press ISSN 1007-9327

• BASIC RESEARCH •

HBV cccDNA in patients' sera as an indicator for HBV reactivation and an early signal of liver damage

Ying Chen, Johnny Sze, Ming-Liang He

Ying Chen, Johnny Sze, Ming-Liang He, The Institute of Molecular Biology, The University of Hong Kong, Hong Kong, China
Supported by CRCG grant from the University of Hong Kong, CERG grant from University Grant Council of Hong Kong, and Research Fund from Science and Technology Commission of Shanghai, China
Correspondence to: Dr. Ming-Liang He, The Institute of Molecular Biology, The University of Hong Kong, Hong Kong, China. mlhe@hkucc.hku.hk

Telephone: +852-2299-0758 **Fax:** +852-2817-1006

Received: 2003-08-02 **Accepted:** 2003-10-22

common diseases leading to a high morbidity and mortality due to the development of liver failure, liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinomas (HCC)^[3-28]. There are over 300 million people suffering from HBV infection worldwide, and more than 10% of Chinese are HBV carriers^[3,5,14]. Infection by hepatitis B virus causes complicated biochemical, immunological and histological changes in host^[7-9,11,16,18,23,24,27]. Viral kinetic studies have shown that the viral load goes through a complex series of stages during anti-HBV chemotherapy^[21,22,29-31]. The HBV reactivation often occurs after cessation of anti-HBV

cccDNA Tespiti

- Henüz ticari kiti bulunmamaktadır.

Kit for detecting hepatitis B virus (HBV) cccDNA (Covalently Closed Circular DNA) of paraffin embedded hepatic tissue

Abstract

The invention relates to a kit for quantitatively detecting hepatitis B virus (HBV) cccDNA (Covalently Closed Circular DNA) of paraffin embedded hepatic tissue, which is characterized by comprising the following steps of: carrying out paraffin embedding on hepatic tissue; then respectively adding extracted total DNA into an HBV rolling loop primer and a notch crossing primer; and carrying out rolling and notch crossing fluorescent quantitative amplification. The kit has the advantages of no need of fresh hepatic tissue as a detecting sample, high detecting specificity and high sensitivity.

CN101948933A

China

 Download PDF  Find Prior Art  Similar

Other languages: [Chinese](#)

Inventor: [钟彦伟](#), [徐东平](#), [韩佳琪](#), [任晓强](#)

Worldwide applications

2010 • [CN](#)

Application CN 201010237282 events

2010-07-22 • Application filed by [中国人民解放军第三〇二医院](#)

2010-07-22 • Priority to [CN 201010237282](#)

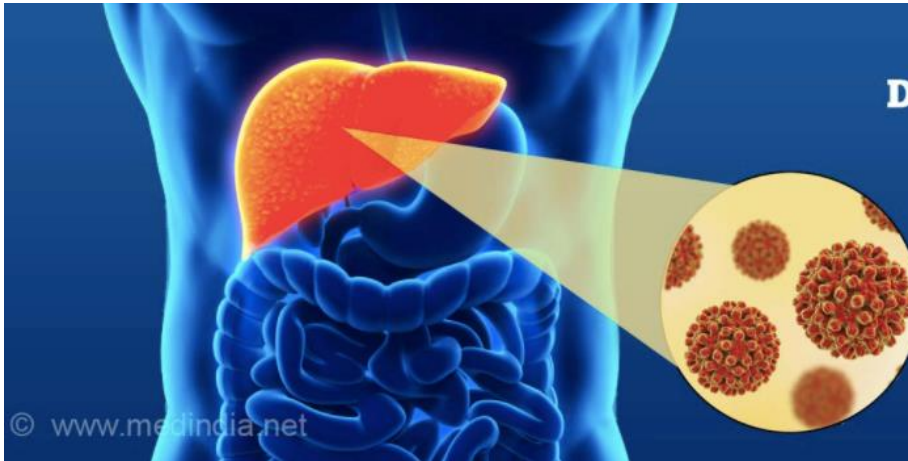
2011-01-19 • Publication of [CN101948933A](#)

2013-04-03 • Application granted

2013-04-03 • Publication of [CN101948933B](#)

Dijital PCR ile cccDNA Tespiti

- Geleneksel **real time PCR**'dan **daha duyarlı** bir sisteme ihtiyaç var.
- HBV infeksiyonunu mevcut yöntemlere göre **daha erken tespit etmede** mevcut yöntemlerden daha üstün.



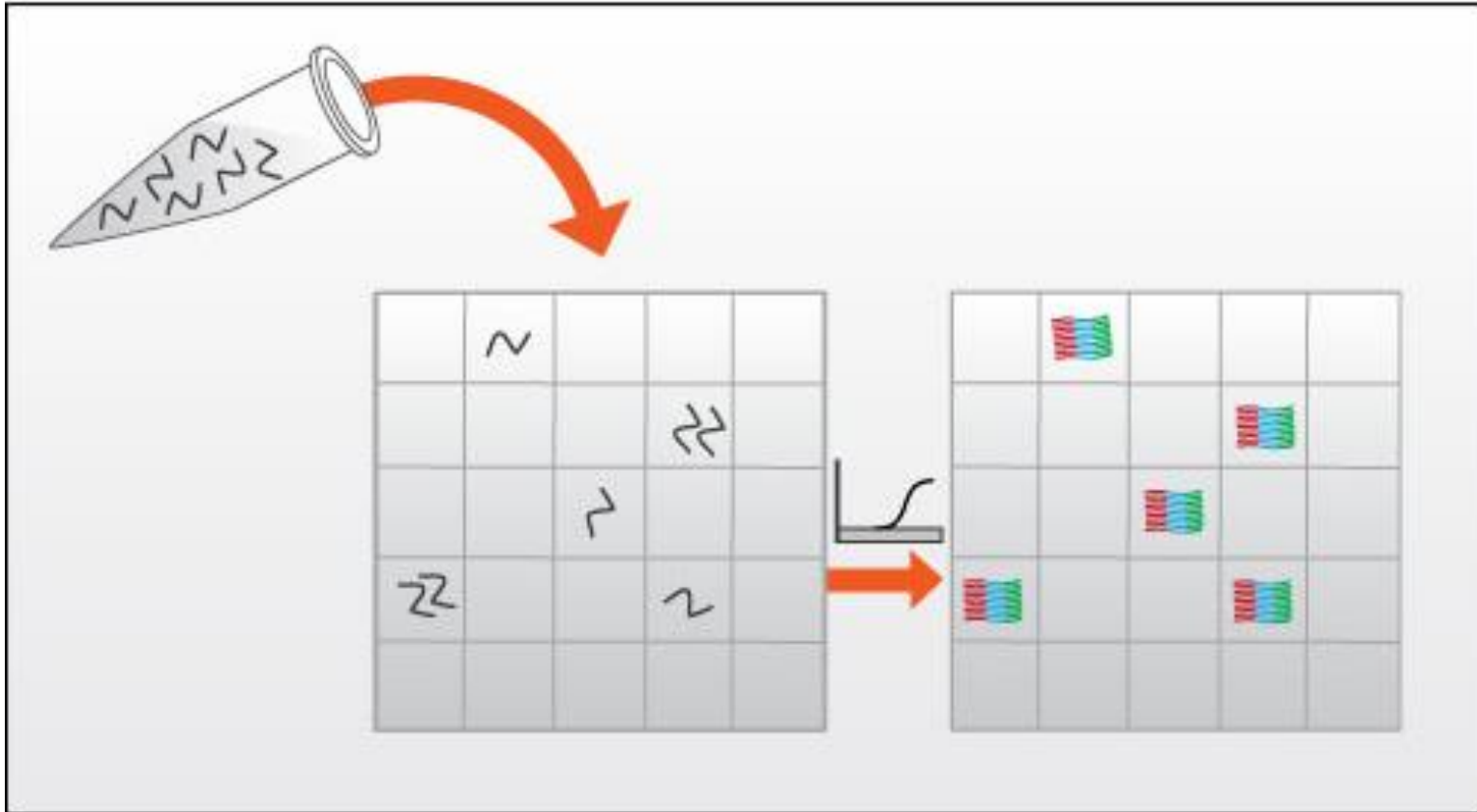
Droplet Digital PCR Detects Hepatitis B Infection Accurately

- > Digital PCR highly sensitive in quantifying Hepatitis B infection in serum samples
- > Hepatitis B infection is associated with increased liver cancer risk and early diagnosis is critical

© www.medindia.net



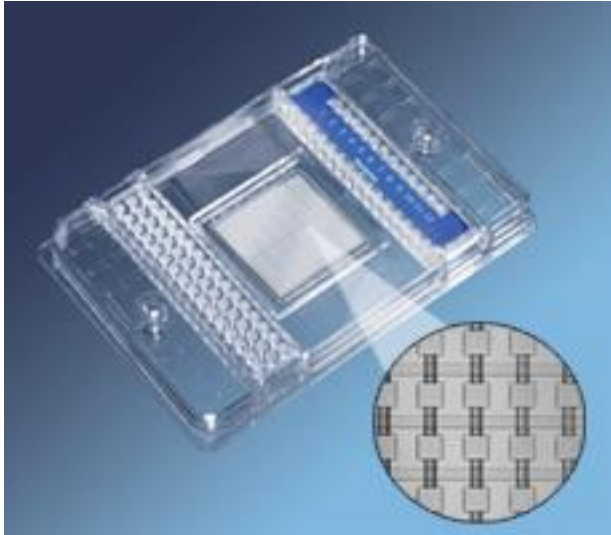
Dijital PCR ile cccDNA Tespiti



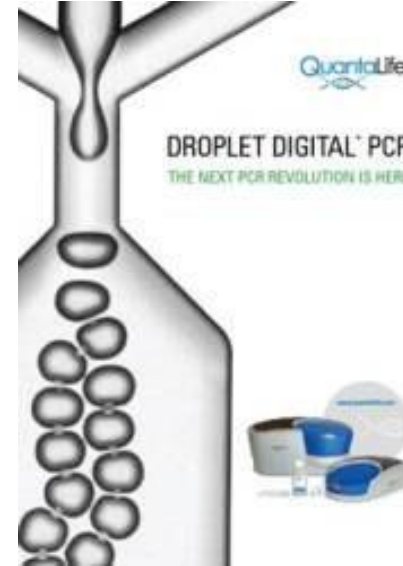
Dijital PCR ile cccDNA Tespiti

- Örnekteki DNA miktarını hesaplayabilmek için maksimum porsiyonlamayı sağlayan iki yöntem geliştirildi.

- Matrix temelli Microfluidic CHIP

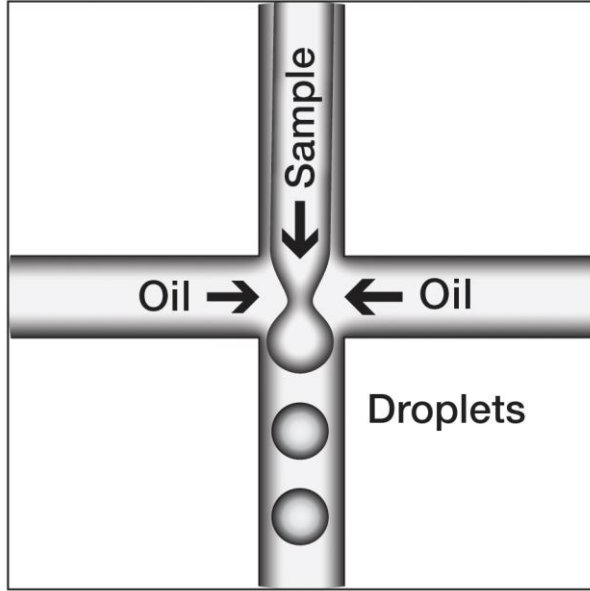


- Emülsiyon PCR, Damlacık PCR



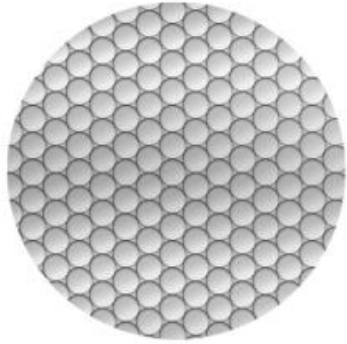
Dijital PCR ile cccDNA Tespiti

- Damlacık üretimi tek tip damlacıklar üretmek hassas hedef miktar tayini sağlar



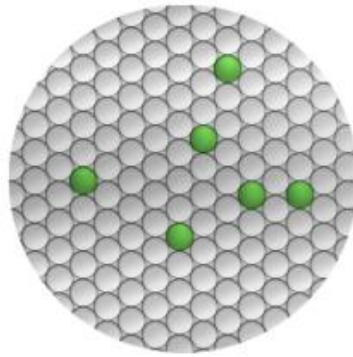
Dijital PCR ile cccDNA Tespiti

Örnek 1



hedef Yok
0/143

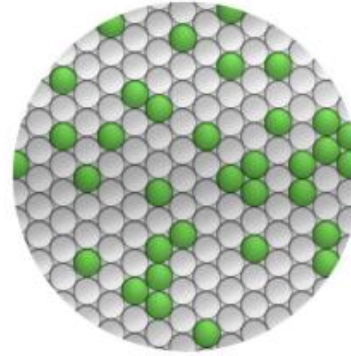
Örnek 2



düşük konsantrasyonda
hedef
6/143

Poisson: 6.2/143

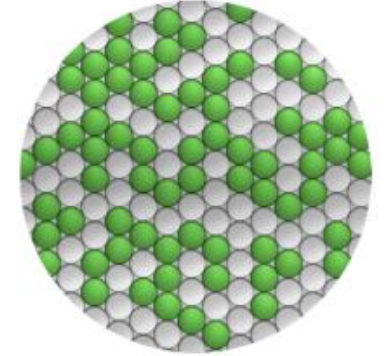
Örnek 3



orta konsantrasyonda
hedef
34/143

38/143

Örnek 4



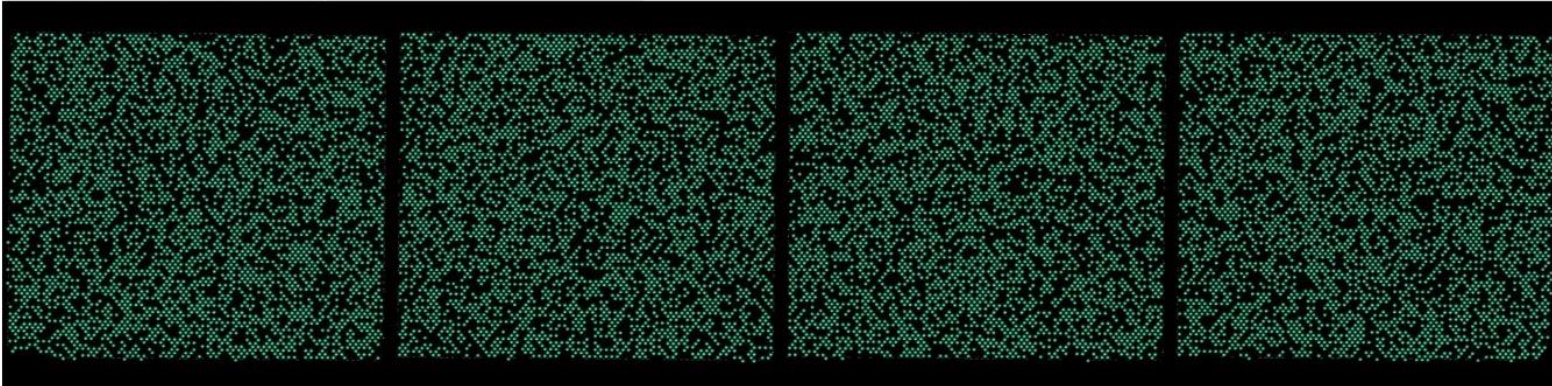
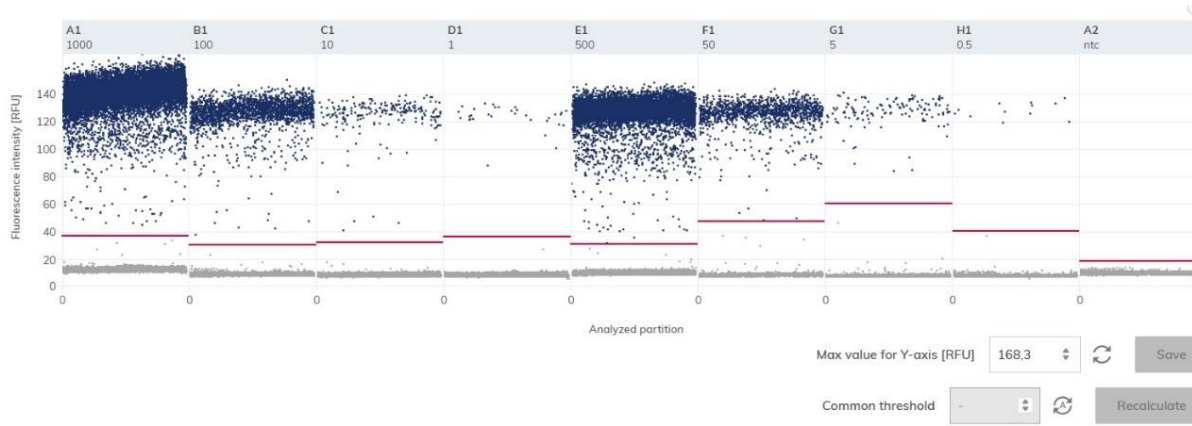
yüksek konsantrasyonda
hedef
70/143

6/143

Yeni Hedefler – Dijital PCR ile cccDNA Tespiti

- Kronik Hepatit B (KHB) Yönetiminde Yeni Moleküler Belirteçler: KHB Hastalarında ve KHB Zemininde Gelişen HCC'li Karaciğer Nakli Hastalarında cccDNA, dsIDNA ve rcDNA/cccDNA Oranının Virolojik Yanıtın ve Prognozun Değerlendirilmesindeki Yeri.

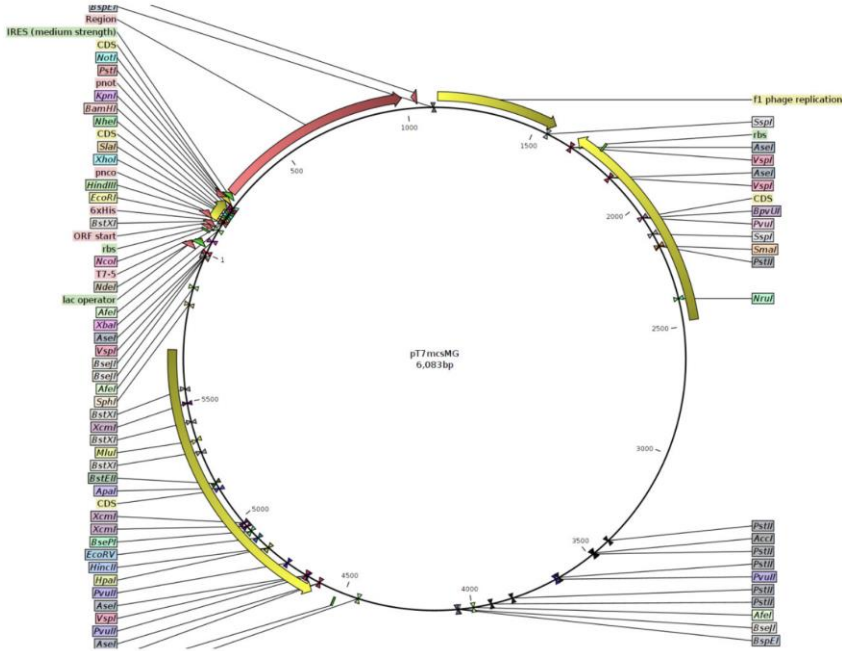
Otlu B, Bayındır Y, Tanrıverdi ES, Harputluoğlu MMM, Işık B



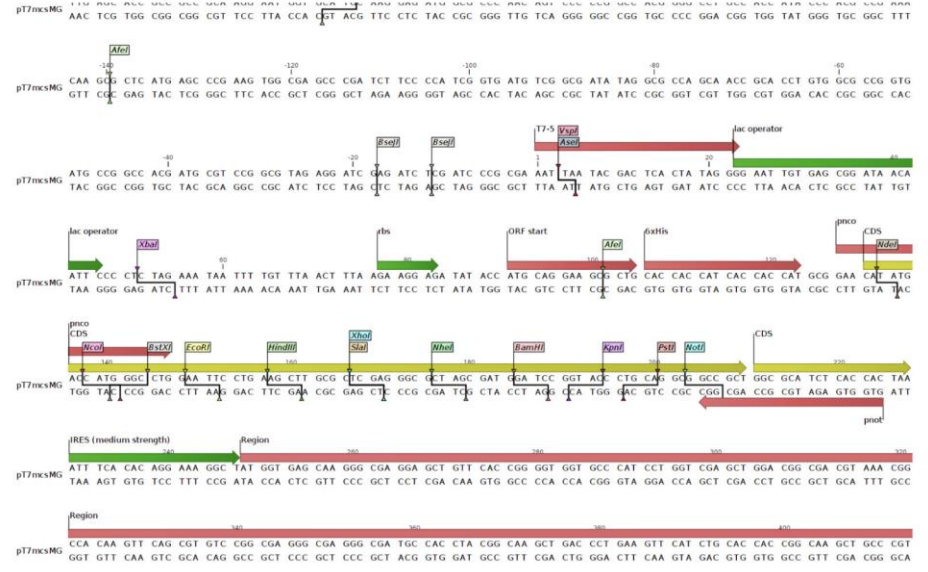
Yeni Hedefler – Dijital PCR ile cccDNA Tespiti

- Proje No: 7231020

Lambda Eksonükleaz Enzim Üretimi



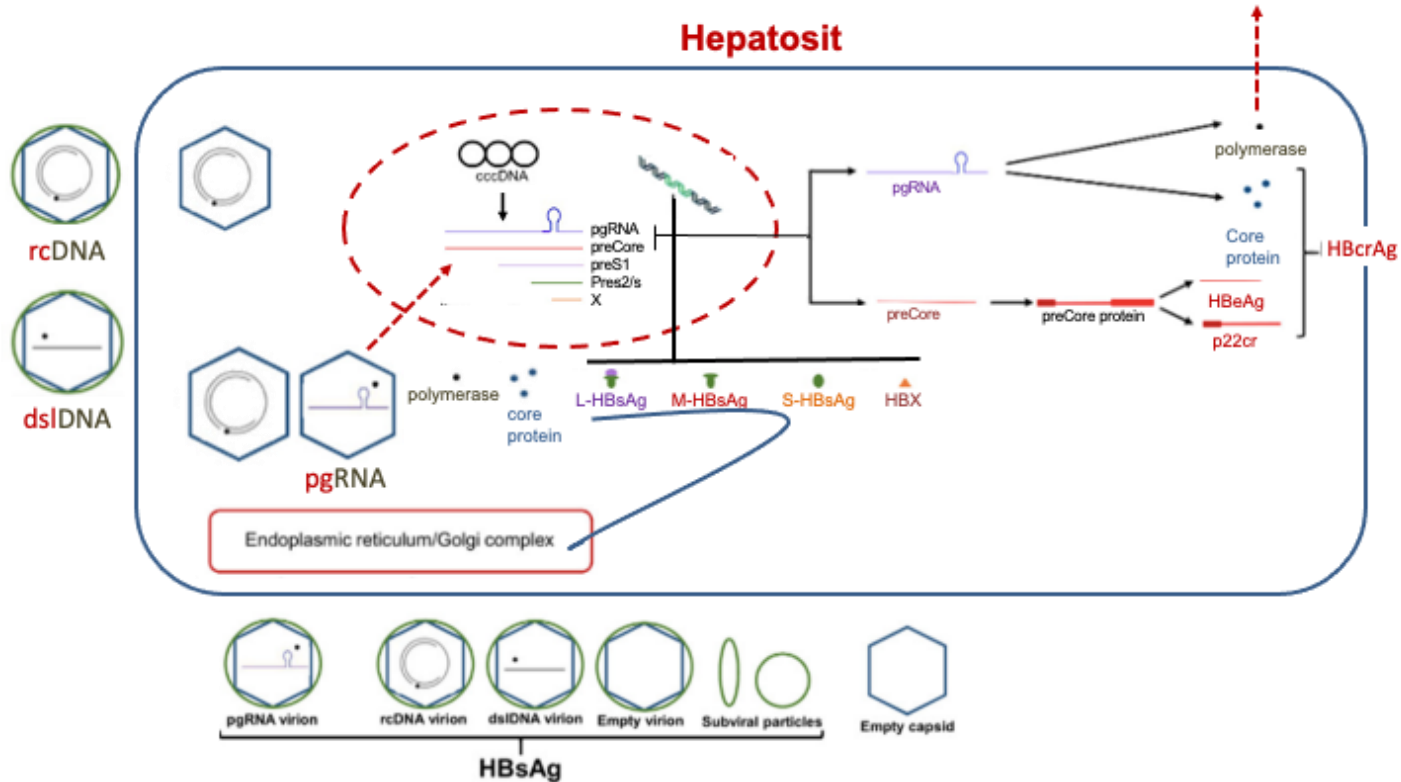
Şekil 1 pT7mcsMG plazmidine lamda exonuclease gen bölgesinin klonlanması



Şekil 2 pT7mcsMG plazmidini XhoI ile linearize edilecek

Pregenomik RNA (pgRNA)

- **pgRNA**, viral kapsid proteini ve DNA polimeraz sentezi için **mRNA fonksiyonu** görmeyen yanı sıra viral DNA'nın revers transkripsiyon yoluyla sentezi için şablon olarak da kullanılır



Pregenomik RNA (pgRNA)

- pgRNA'nın transkripsiyonu genom amplifikasyonu için kritik basamaktır ve HBV replikasyonunun hızını belirlediği söylenebilir .
- viral DNA sentezi için kalıp olarak kullanıldığı için fazla miktarda olması aktif viral replikasyon ile bulaşıcılık ve enfektivite göstergesi olarak kabul edilir.



HBV pg RNA quantitative detection

Hepatitis B virus, abbreviated HBV, is of the partially double stranded DNA type, with genome around 3.2kb in length. It encodes four mRNAs in different lengths of 3.5kb, 2.4kb, 2.1kb and 0.7kb, of which, the 3.5kb mRNA is the HBV pregenome RNA(pg RNA). Studies show that patients with no pgRNA have a much lower relapse rate than patients with high pgRNA levels. Therefore, detection of pgRNA level has important clinical implications.

HBV pgRNA quantitative assay kit(PCR-fluorescent probe method) uses real-time fluorescence quantitative PCR to quantify pgRNA. PCR assay adopts internal control for monitoring potential inhibitory factors. Also, UDG and dUTP are used to minimize PCR cross-contamination and avoid false-positive results.

Product information

Code	Product	Pack size	Method
SP-006-24	HBV pgRNA assay kit	24T	PCR-Fluorescent probe method

Pregenomik RNA (pgRNA)

- Farklı klinik sonuçları olan HBV hastalarında pgRNA'nın tespitinin tanıdaki önemini araştırılmış.
 - **pgRNA**, HBV-DNA, HBsAg ile korelasyonu yüksek
- **HBV DNA yükü <500 IU/ml olan 108 hasta**
<20 IU/ml altında olan 17'sinde pgRNA pozitif
- Antiviral tedavinin kesilme zamanına karar vermede, özellikle **HBV-DNA saptama sınırlarının** altındaki hastalarda önemli



VIROLOGY



Diagnostic Value of Detection of Pregenomic RNA in Sera of Hepatitis B Virus-Infected Patients with Different Clinical Outcomes

Ni Lin,^{a,b,c} Aizhu Ye,^{a,b,d} Jinpiao Lin,^{a,b} Can Liu,^{a,b} Jinlan Huang,^{a,b} Ya Fu,^{a,b} Songhang Wu,^{a,b} Siyi Xu,^{a,b} Long Wang,^{a,b} Qishui Ou^{a,b}

integrated HBV DNA (dsIDNA)

- 1980 yılında keşfedildi.
- HBV DNA'nın hepatosit **kromozomuna entegrasyonu** HCC'nin primer nedeni!

Insights into Hepatitis B Virus DNA Integration-55 Years after Virus Discovery

Kaitao Zhao,¹ Andrew Liu,² and Yuchen Xia^{1,*}

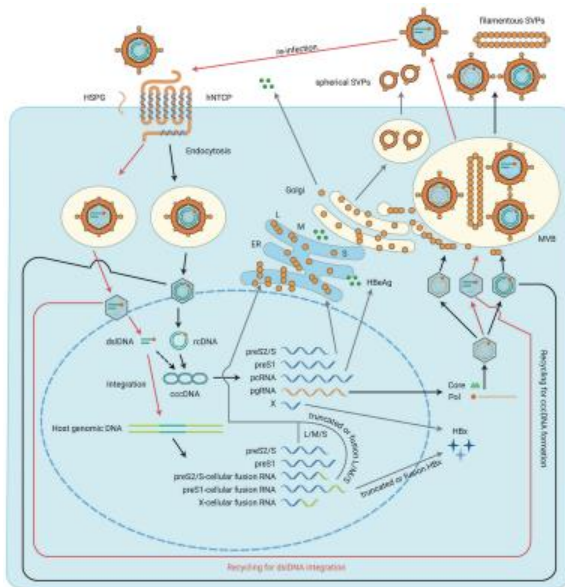
¹State Key Laboratory of Virology and Hubei Province Key Laboratory of Allergy and Immunology, School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China

²Laboratory of Molecular Cardiology, National Heart Lung Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20814, USA

*Correspondence: yuchenxia@whu.edu.cn

<https://doi.org/10.1016/j.xinn.2020.100034>

© 2020 The Authors. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

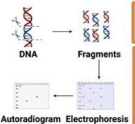


integrated HBV DNA (dsIDNA)

- dsIDNA, konak genomuna kararlı bir şekilde entegre olabilen viral HBV DNA'nın başka bir kararlı formudur.
- rcDNA üretmez ancak dsIDNA, viral RNA'lar ve proteinler üretebilir.

First Generation Techniques

Southern Blot



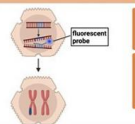
Advantages

- Low cost

Limitations

- No info on HBV-int location
- Selection bias for clonally expanded HBV-int
- Low sensitivity
- Dependent on restriction enzyme sites

Fluorescent In Situ Hybridization (FISH)



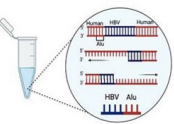
Advantages

- Info on HBV-int location

Limitations

- Poor sensitivity
- High error rate for unspecific probe binding

Alu PCR



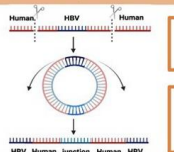
Advantages

- Info on HBV-int location
- Low cost

Limitations

- Dependant on Alu sequences
- Selection bias for HBV-int close to Alu

Inverse PCR (invPCR)



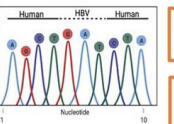
Advantages

- High sensitivity
- Quantitative method

Limitations

- Technically demanding
- Selection bias for HBV-int at 1650-1850 bp of HBV genome

Cloning and Sanger Sequencing



Advantages

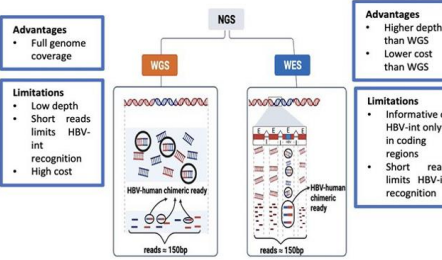
- Informative on HBV DNA-int and adjacent cellular DNA

Limitations

- Low throughput
- Dependent on restriction enzyme sites for cloning

Second Generation Techniques

Whole genome sequencing (WGS)/Whole exome sequencing (WES)



Advantages

- Full genome coverage

Limitations

- Low depth
- Short reads limits HBV-int recognition
- High cost

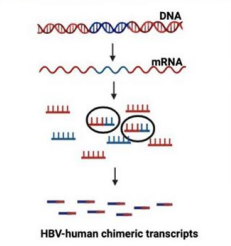
Advantages

- Higher depth than WGS
- Lower cost than WGS

Limitations

- Informative on HBV-int only in coding regions
- Short reads limits HBV-int recognition

RNA sequencing (RNA seq)



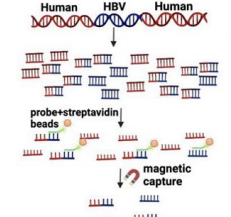
Advantages

- Higher depth than WGS
- Higher depth than WGS
- Info on expression of HBV int genes

Limitations

- Selection bias on HBV-int in highly expressed genes.
- Quite high costs
- Short reads limits HBV-int recognition

HBV probe-based capture NGS



Advantages

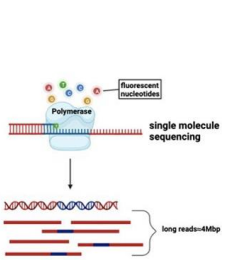
- Reduced costs than WGS
- Good sensitivity and specificity

Limitations

- Short reads limits HBV-int recognition

Third Generation Techniques

Third generation sequencing technologies based on long reads



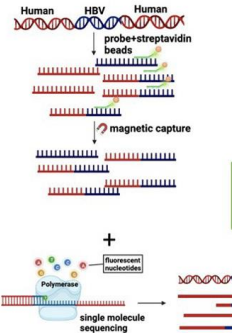
Advantages

- Detect complex patterns of HBV-int and structural variations
- Detect the entire viral regions involved in HBV-int

Limitations

- High error rate
- High cost
- Require large amount of input DNA

Long reads third generation sequencing coupled to HBV probe-based capture



Advantages

- Still high cost
- Demanding bioinformatic analysis

Limitations

- Still high cost
- Demanding bioinformatic analysis

integrated HBV DNA (dsIDNA)

- 70 Kronik Hepatit B hastası;
HBeAg (-) olan hastalarda dsIDNA'nın integrasyonu daha yüksek, HBeAg (+) daha düşük
- Entegre olmuş DNA; yüksek HBsAg seviyesi ve düşük HBeAg ilişkili olabilir.

The Journal of Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



Abundance of Noncircular Intrahepatic Hepatitis B Virus DNA May Reflect Frequent Integration Into Human DNA in Chronically Infected Patients

Gustaf E. Rydell[✉], Simon B. Larsson, Kasthuri Prakash, Maria Andersson, Heléne Norder, Kristoffer Hellstrand, Gunnar Norkrans, and Magnus Lindh

Department of Infectious Diseases, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden


integrated HBV DNA (dsIDNA)

- HBV DNA entegrasyonunun HCC ile yakın bir ilişkili olduğu gösterilmiştir.
- Karaciğer kanseri hücrelerinin genomunda,
HBV DNA entegrasyonu %90,
normal karaciğer dokularından %30
- Hayvan modeli çalışmalarında her 10^3 - 10^4 hücrenin birinde entegrasyon gerçekleştiği gösterilmiş.



Review

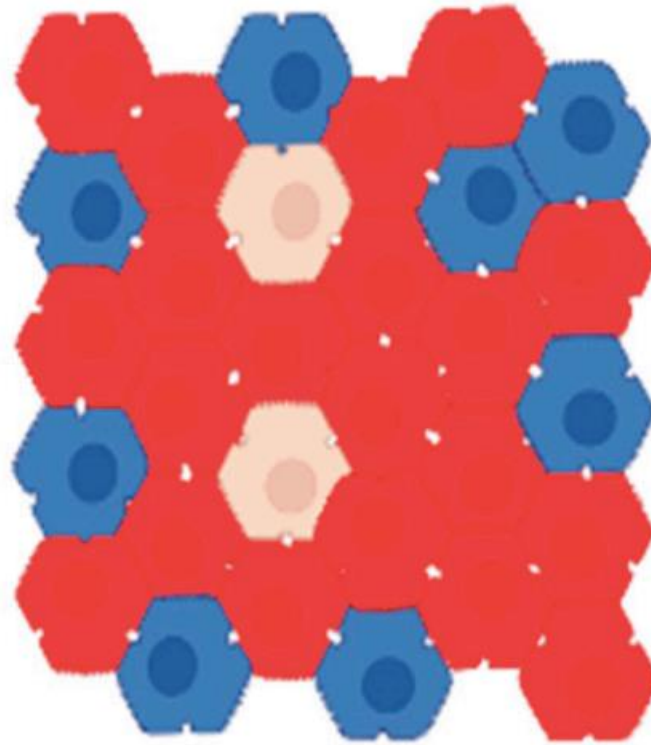
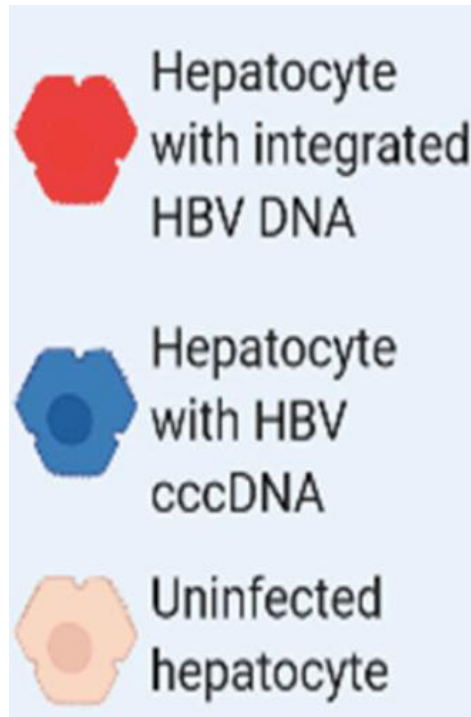
Hepatitis B Virus DNA Integration: In Vitro Models for Investigating Viral Pathogenesis and Persistence

Thomas Tu ^{1,2,*} , Henrik Zhang ¹ and Stephan Urban ^{3,4}

integrated HBV DNA (dsIDNA)

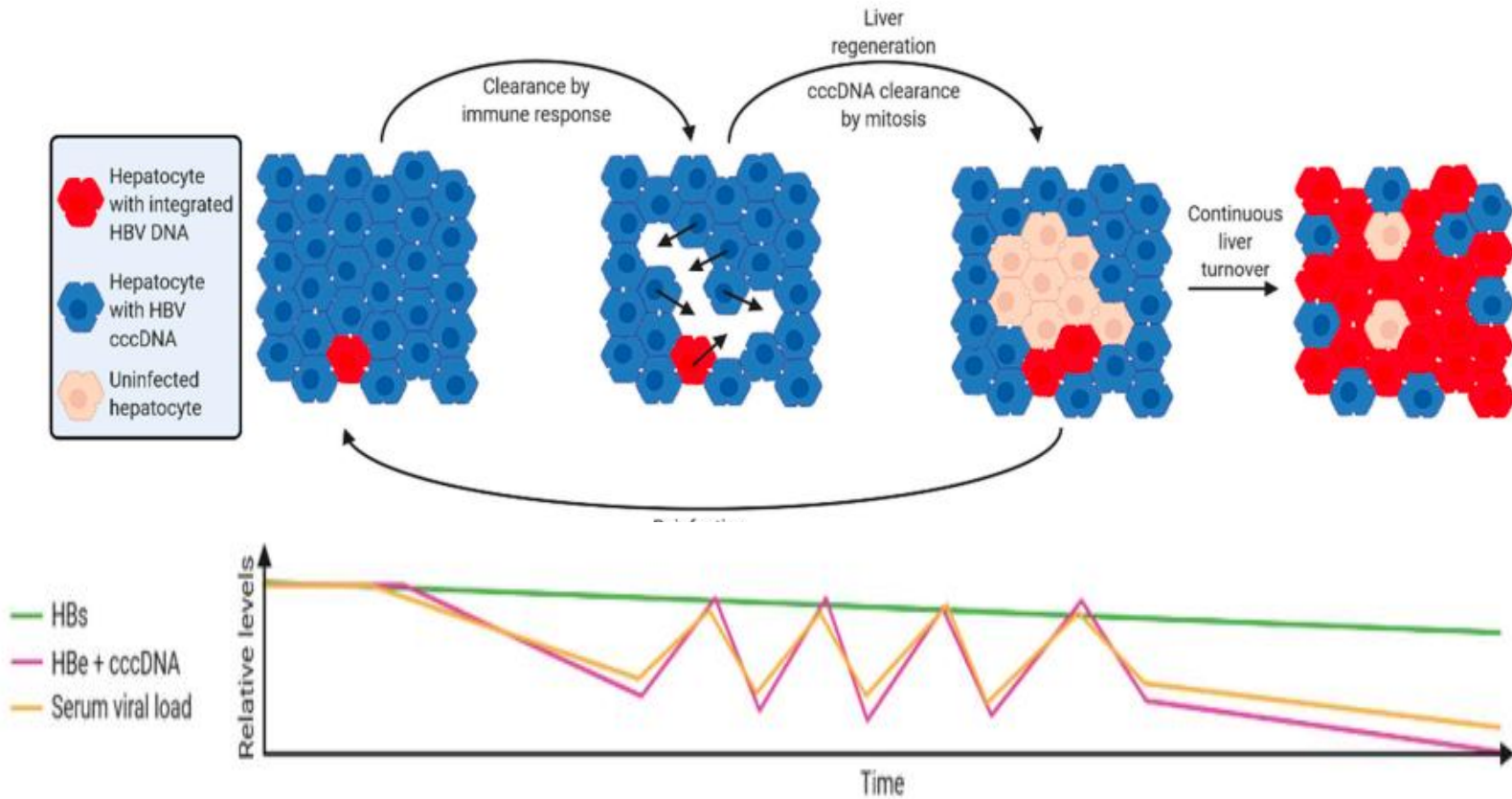
- Kronik bir HBV enfeksiyonu seyri boyunca varsayımsal bir **konak-virüs dinamiği modeli**.

İntegre HBV DNA'nın karaciğer yayılması



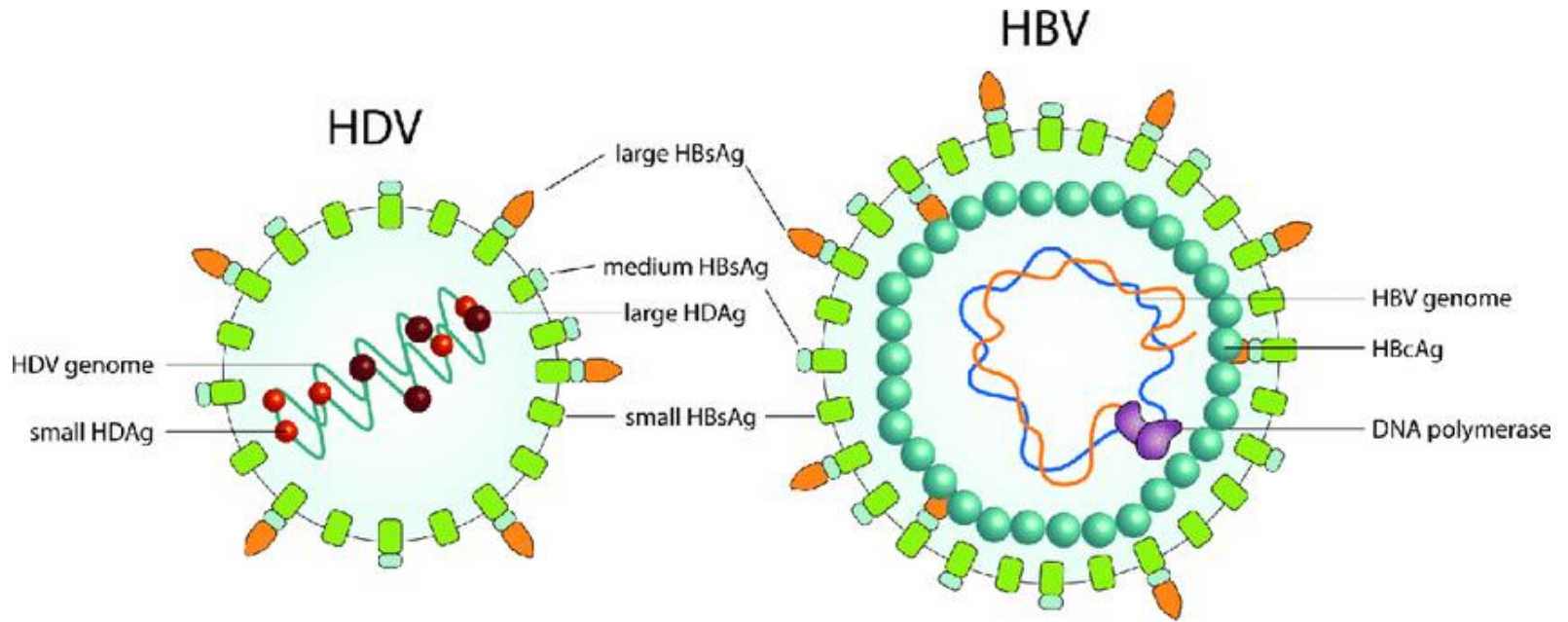
integrated HBV DNA (dsIDNA)

- Kronik bir HBV enfeksiyonu seyri boyunca varsayımsal bir konak-virüs dinamiği modeli.



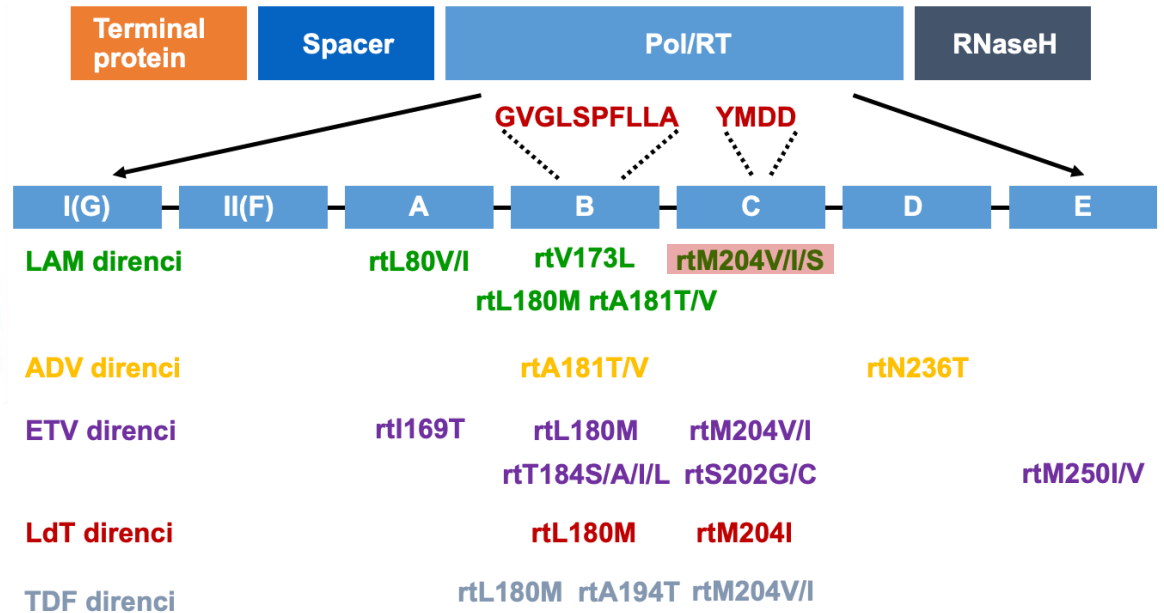
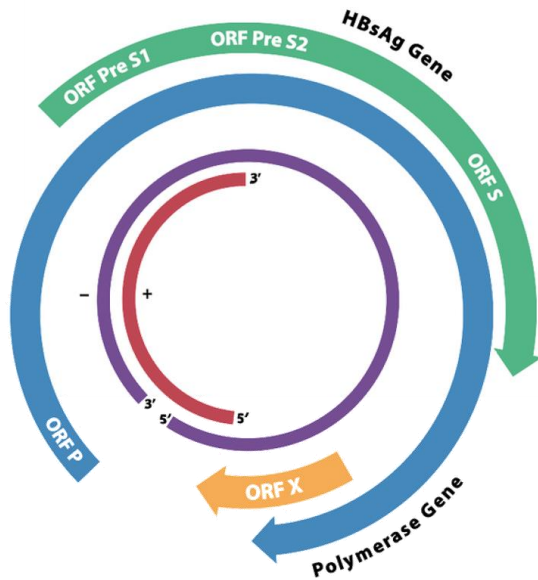
integrated HBV DNA (dsIDNA)

- Entegre HBV DNA, HDV Replikasyonuna Katkıda Bulunabilir mi?
- Bu konu henüz net değil!
- Bununla birlikte, deneysel bir bakış açısından bakıldığında, HDV'nin, entegre HBV DNA'dan üretilen HBsAg'den yararlanarak HBV'den yoksun hepatositlerde çoğalma olasılığı var



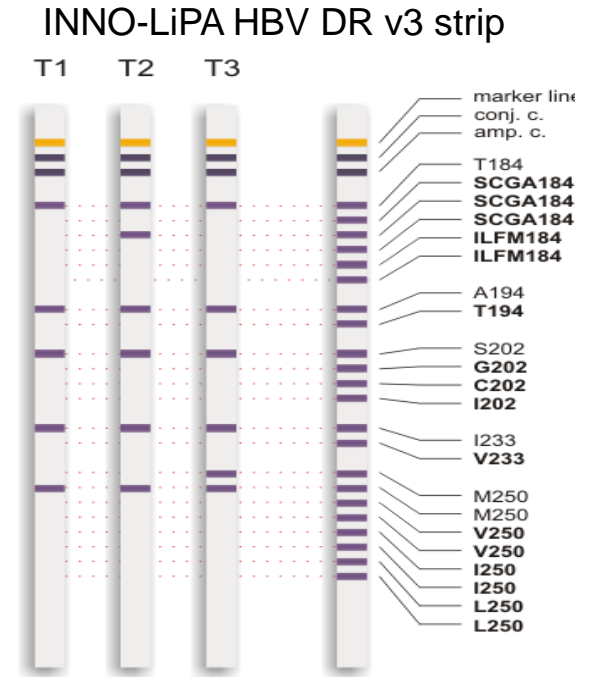
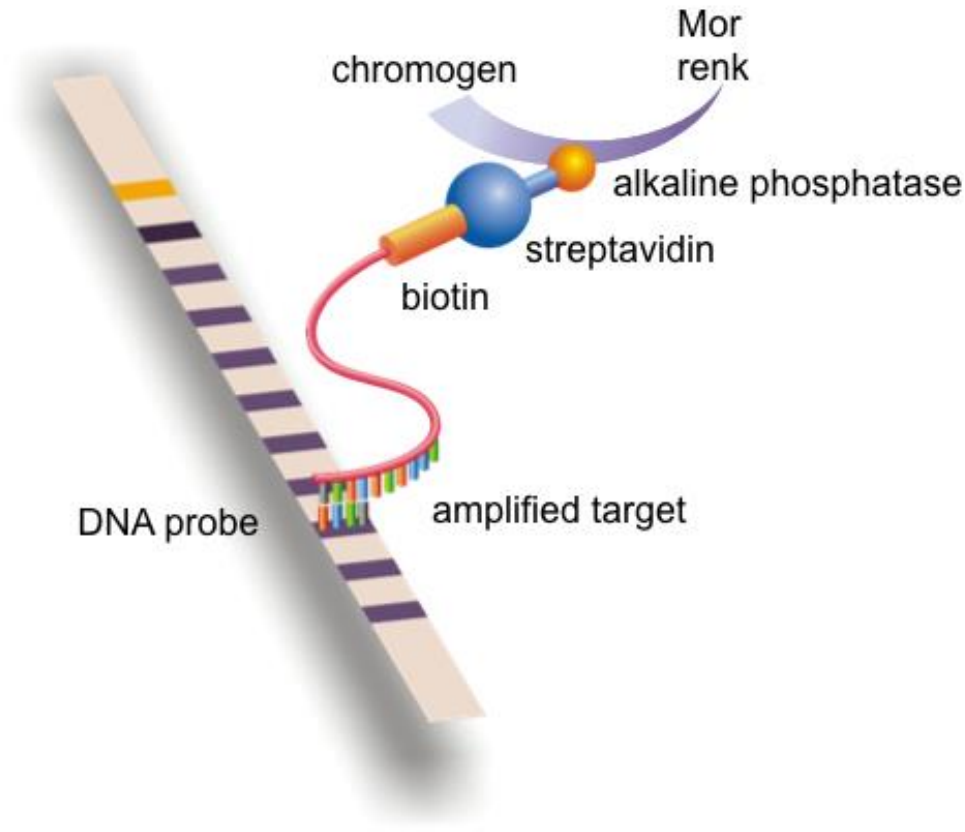
HBV İlaç Direnci

- Polimeraz genindeki mutasyonların tespiti
 - Dizileme temelli yöntemler
 - Hibridizasyon temelli



HBV İlaç Direnci

- Polimeraz genindeki mutasyonların tespiti
 - Hibridizasyon temelli



T	SCGA	T	cd184
A	A	A	cd194
S	S	S	cd202
I	I	I	cd233
M	M	M	cd250

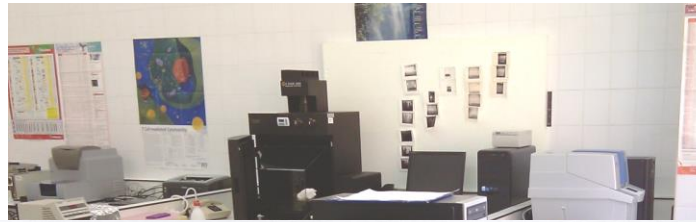
HBV İlaç Direnci

- Polimeraz genindeki mutasyonların tespiti
 - Dizileme temelli yöntemler

Sanger sequencing



Pyrosequencing



HBV Direnç Tablosu

Primerler	Mutasyon Durumu	SEKANS	ANTİVİRALLER
Primer-1	Duyarlı (wt)	CAC-TCC-CAT-AGG-T/AAT-C/TTT-GCT/G-AAA-GCC	Duyarlı
	V173L	<u>CAG</u> -TCC-CAT-AGG-T/AAT-C/TTT-GCT/G-AAA-GCC	Lamuvudine
	I169T	CAC-TCC-CAT-AGG- <u>TGT</u> - C/TTT-GCT/G-AAA-GCC	Entecavir
	I169T	CAC-TCC-CAT-AGG- <u>AGT</u> - C/TTT-GCT/G-AAA-GCC	Entecavir
Primer-2	Duyarlı (wt)	__T- <u>AGT</u> -AAA-CTG-AGC-CAA/G-GAG-AAA-CGG	Duyarlı
	T184S	__T- <u>ACT</u> -AAA-CTG-AGC-CAA/G-GAG-AAA-CGG	Lamuvudine, Entecavir
	T184S	__T- <u>AGA</u> -AAA-CTG-AGC-CAA/G-GAG-AAA-CGG	Lamuvudine, Entecavir
	A181V	__T- <u>AGT</u> -AAA-CTG- <u>ACC</u> -CAA/G-GAG-AAA-CGG	Lamuvudine, Adefovir, Tenofovir
	L180M	__T- <u>AGT</u> -AAA-CTG-AGC- <u>CAT</u> - GAG-AAA-CGG	Lamuvudine, Adefovir, Tenofovir
Primer-3	Duyarlı (wt)	AGC-CCT/G-G/ACG-A/CAC-CAC-TGA	Duyarlı
	A194T	<u>AGT</u> -CCT/G-G/ACG-A/CAC-CAC-TGA	Tenofovir
Primer-4	Duyarlı (wt)	__C- <u>CAT</u> -ATA-A/GCT-G/AAA-AGC-CAA/G-ACA-GTG	Duyarlı
	M204V	__C- <u>CAC</u> -ATA-A/GCT-G/AAA-AGC-CAA/G-ACA-GTG	Lamuvudine, Entecavir, Telbivudine, Tenofovir
	M204I	__C- <u>T/A/GAT</u> -ATA-A/GCT-G/AAA-AGC-CAA/G-ACA-GTG	Lamuvudine, Entecavir, Telbivudine, Tenofovir
	S202I	__C- <u>CAT</u> -ATA-A/GAT-G/AAA-AGC-CAA/G-ACA-GTG	Entecavir
Primer-5	Duyarlı (wt)	G/AG/TN-A/G/TGT/G-GIATT-C/TAA/G-ATG-T/GAT-A/GCC	Duyarlı
	N236T	G/AG/TN-A/G/TGT/G- <u>GIAGT</u> -C/TAA/G-ATG-T/GAT-A/GCC	Adefovir
Primer-6	Duyarlı (wt)	T/G/AAT/C-G/ATA-G/A/TCC- <u>CAT</u> -G/AAA-GIATG/T-T/AAA/G/GA-GI/ATA	Duyarlı
	M250V	T/G/AAT/C-G/ATA-G/A/TCC- <u>CAC</u> -G/AAA-GIATG/T-T/AAA/G/GA-GI/ATA	Entecavir

HBV İlaç Direnci

- 2006-2018 yılları arasında toplam 120 kronik hepatit B hastasına ait HBV ilaç direnci sonuçlarımıza göre; hastaların %52'sinde tekli ve %48'inde çoklu baz mutasyonu belirlenmiştir.



Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(1):41-46
doi:10.5222/TMCD.2019.041

Araştırma / Research Article

Tedavi Başarısızlığı Olan Kronik HBV Hastalarında Nükleoz(t)id Direnç Mutasyonları[§]

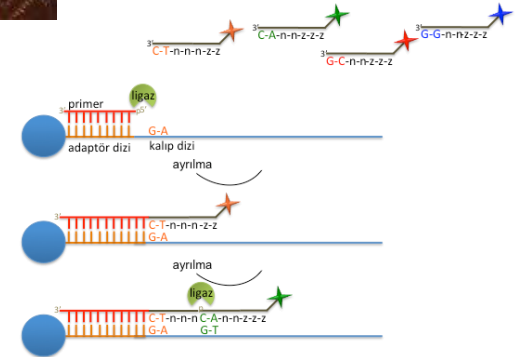
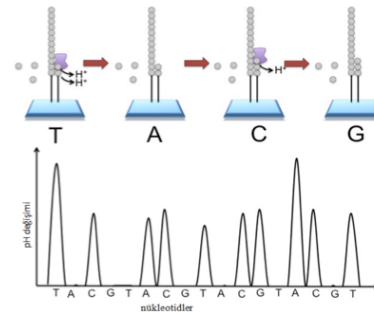
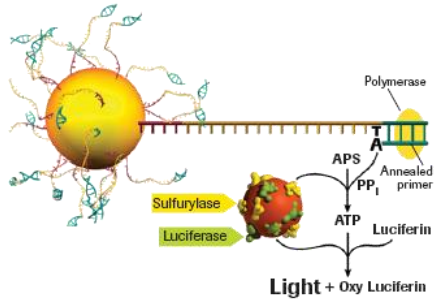
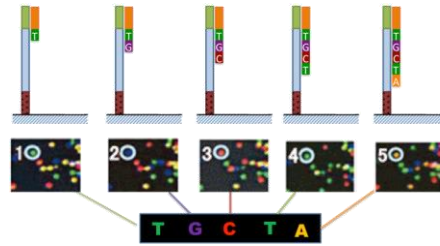
Nucleos(t)ide Resistance Mutations in Chronic HBV Patients with Treatment Failure

Tablo 1. Çalışmada belirlenen tekli ve çoklu baz mutasyonlarının dağılımı ve olası nükleoz(t)id analoglarına direnci.

Mutasyon	Primer ve kompensatuvar ilaç direnci ^(3,6-8)	Hasta sayısı n (%)
Tek Baz Mutasyonu		
rtM204V/I	LAM/Ldt	41 (34.16)
rtL180M	LAM/Ldt (Kompensatuvar)	8 (6.66)
rtA181T/V	LAM/ADV	7 (5.83)
rtL80V/I	LAM (Kompensatuvar)	3 (2.5)
rtN236T	ADV	3 (2.5)
Çoklu Baz Mutasyonu		
rtM204V/I+rtL180M	LAM/Ldt (Kompensatuvar)	22 (18.33)
rtM204V/I+rtL80V/I	LAM/Ldt (Kompensatuvar)	20 (16.66)
rtM204V/I+rtA181T/V	LAM/Ldt/ADV	5 (4.16)
rtL180M+rtL80V/I	LAM/Ldt (Kompensatuvar)	3 (2.5)
rtL180M+rtA181T/V	LAM/Ldt/ADV (Kompensatuvar)	2 (1.66)
rtA181T/V+rtV173L	LAM/ADV (Kompensatuvar)	1 (0.83)
rtM204V/I+rtV173L	LAM/Ldt (Kompensatuvar)	1 (0.83)
rtL80V/I+rtA181T/V	LAM/ADV (Kompensatuvar)	1 (0.83)
rtM204V/I+ rtL180M+rtL80V/I	LAM/Ldt (Kompensatuvar)	1 (0.83)
rtM204V/I+rtL80V/I+rtA181T/V	LAM/Ldt/ADV (Kompensatuvar)	1 (0.83)
rtM204V/I+ rtL180M+rtN236T	LAM/Ldt/ADV (Kompensatuvar)	1 (0.83)

HBV İlaç Direnci

- Yeni nesil dizileme sistemleri

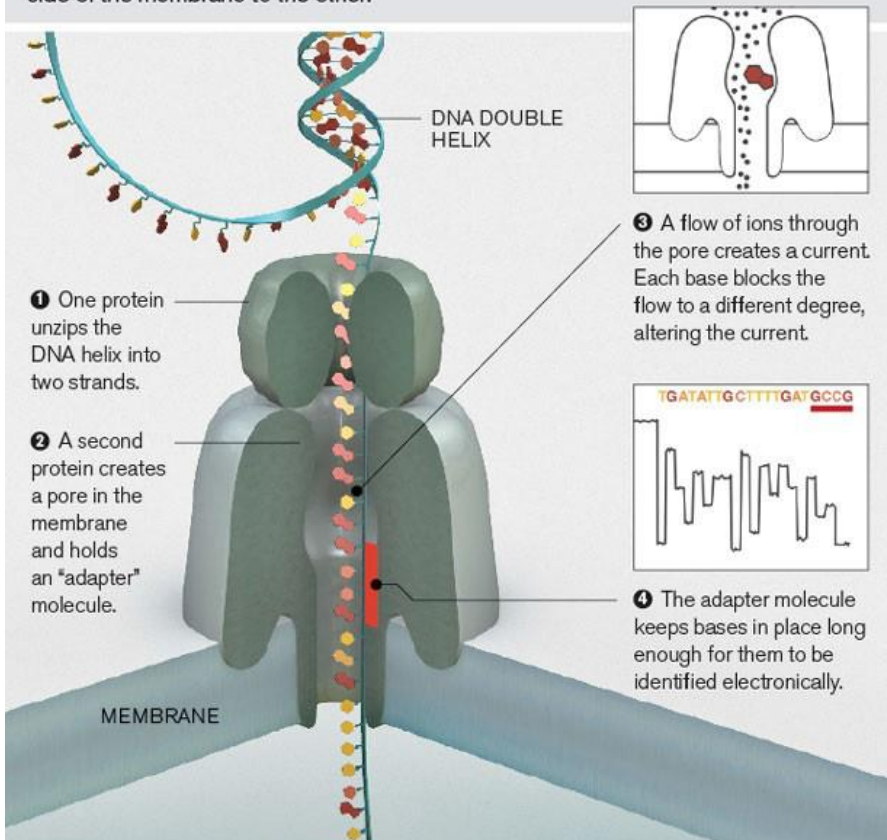


HBV İlaç Direnci

- Yeni nesil dizileme sistemleri

Oxford Nanopore Technology

DNA can be sequenced by threading it through a microscopic pore in a membrane. Bases are identified by the way they affect ions flowing through the pore from one side of the membrane to the other.



My [Twitter feed](#) just exploded. Oxford Nanopore, long the sleeper project to watch in the field of mapping DNA, just announced two products that could dramatically change the field of DNA sequencing: a new DNA sequencer that may be able to handle a human genome in 15 minutes, and a USB thumb drive DNA sequencer that can read DNA directly from blood with no prep work.

HBV İlaç Direnci

- Yeni nesil dizileme sistemleri

Oxford Nanopore Technology

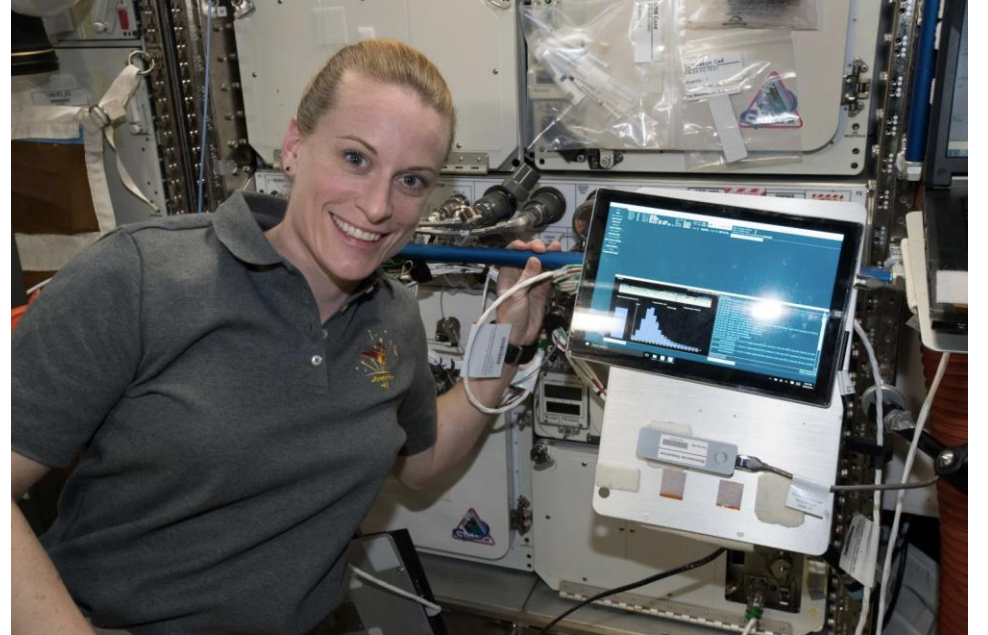


Oxford Nanopore
@nanopore

Takip ediliyor

New @nanopore supplies have arrived @space_station to sequence and ID on-board organisms. NASA blog [go.nasa.gov/2oL14sL](https://www.nasa.gov/2oL14sL)

İngilizce dilinden çevir



HBV İlaç Direnci

- Yeni nesil dizileme sistemleri
- Astbury ve arkadaşları, **HBV genotipini tespit etmek ve direnç mutasyonlarını** belirlemek için kurutulmuş kan lekelerinden DNA izolasyonuna ihtiyaç duymayan **Oxford Nanopore** teknolojisine dayalı bir yöntem geliştirmişlerdir.

Nanopore sequencing from extraction-free direct PCR of dried serum spots for portable hepatitis B virus drug-resistance typing

Stuart Astbury^{a,b,c}, Marcia Maria Costa Nunes Soares^d, Emmanuel Pehrah^e, Barnabas King^{b,e}, Ana Carolina Gomes Jardim^{f,j}, Jacqueline Farinha Shimizu^{f,j}, Paywast Jalal^g, Chiman H. Saeed^h, Furat T. Sabeerⁱ, William L. Irving^{b,c,e}, Alexander W. Tarr^{b,c,e,*}, C. Patrick McClure^{b,e}

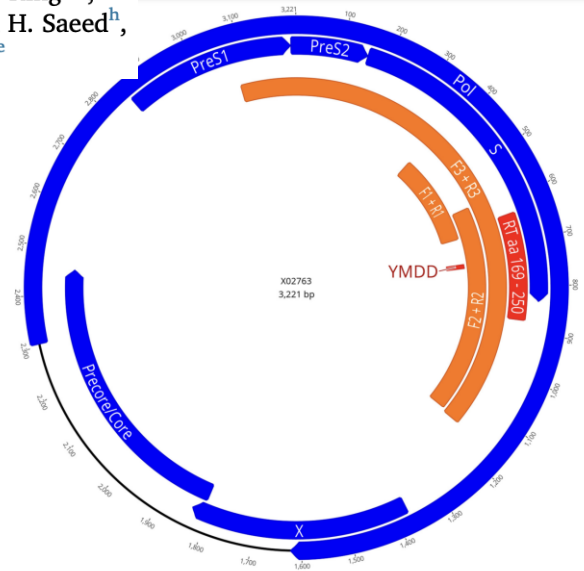


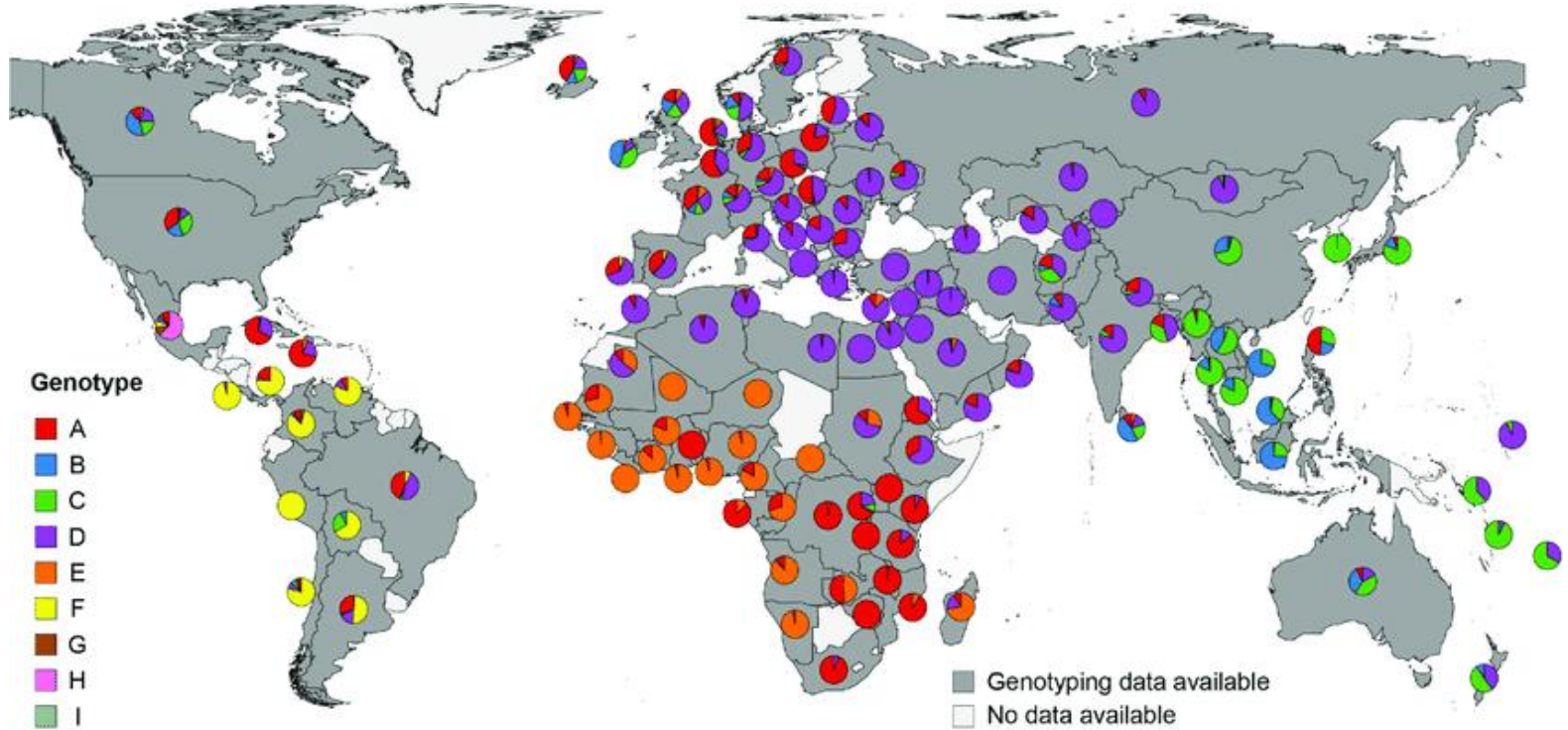
Fig. 1. Cartoon highlighting the locations of PCR amplicons. Overlapping ORFs in the HBV genome (genotype A reference isolate X02763) are shown in blue. PCR amplicons generated in this study are shown in orange, and the crucial RT region associated with treatment resistance mutations (aa169 – 250) is shown in red. The F1 + R1 amplicon is sufficient for genotyping and limited detection of SAg diagnostic escape mutants. The region of the reverse transcriptase (RT) domain in which resistance associated substitutions (RAS) arise (aa169 – 250), shown in red, is encompassed by the F2 + R2 amplicon.

HBV Genotiplendirme

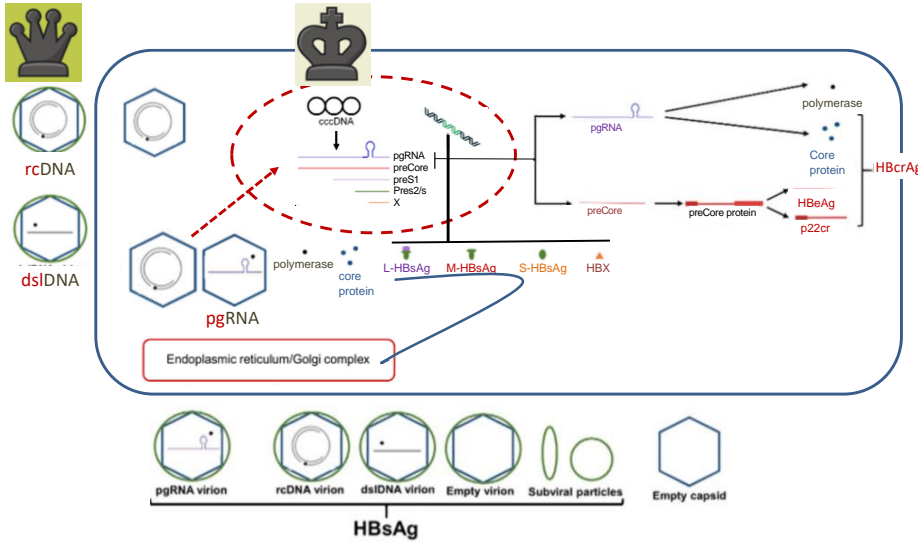
- Bugüne kadar sekiz HBV genotipi ayrıntılı olarak tanımlanmış olup, her biri nispeten iyi tanımlanmış bir coğrafi dağılıma sahip toplam **10 HBV genotipi** bilinmektedir.
 - Dizi analizi ile filogenetik analiz“ altın standart”
 - *Line probe assay*
 - *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*
 - Tipe özgü primerler ile PCR
 - PCR-RFLP
 - Genotype-specific probe assay
 - Real-time PCR
 - Oligonucleotide CHIP Teknolojileri

HBV Genotiplendirme

- Genotip A ve D, genotip B ve C'ye kıyasla interferon tedavisine daha duyarlıdır.
- Genotip C HBV'li kişilerin genotip B ile enfekte olanlara kıyasla **karaciğer kanserine** ilerleme olasılığı daha yüksektir.
- Ülkemizde **genotip D baskın**, ciddi karaciğer hastalığı daha sık, interferon tedavisine yanıt düşük, pre-core ve cor promotor mutasyonları sık

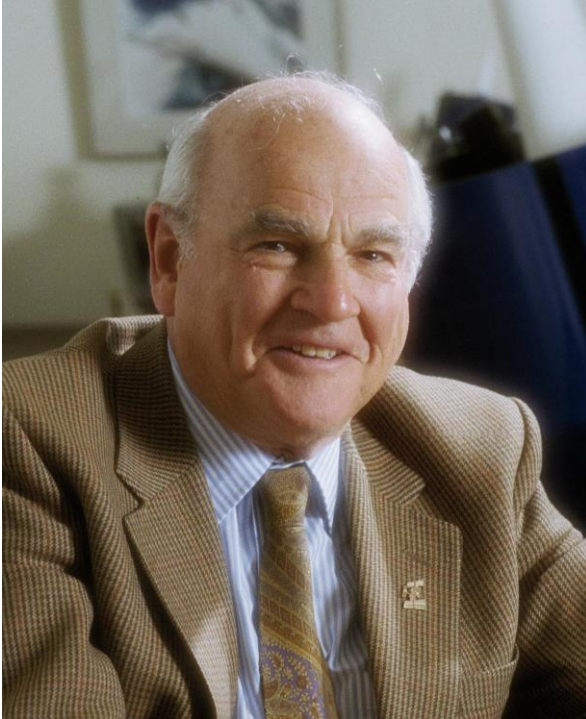


- **Sonuç olarak** hepatit B eradikasyonu **zorlu bir hedef** olmakla birlikte, hedefe yönelik yaklaşımlar, küresel yatırımlar ve önleme stratejileri ile mümkün olabilir.
- **Tedavi etmek için;**



Barry

- 1999 yılında NASA'nın Kaliforniya'daki **Astrobiyoloji Enstitüsü'nün** ilk direktörü seçildi.
- Barry Astrobiyoloji **üç temel soruyu ele aldı**:
 - Yaşam nasıl başladı ve evrimleşti?
 - Dünya dışında yaşam var mı?
 - Dünya'da ve ötesinde yaşamın geleceği nedir?



- Barry, 5 Nisan 2011'de

NASA'nın Ames Araştırma Merkezi'nde Ay keşfi üzerine bir konferansta konuştuktan kısa bir süre sonra vefat etti.

Baruch Blumberg, Who Discovered and Tackled Hepatitis B, Dies at 85

Share full article



Baruch S. Blumberg at the Fox Chase Cancer Center in 2001.
Sal DiMarco Jr. for The New York Times

Doğum günü: 28 Temmuz 1925

