ANKARA ÜNİVERSİTESİ

BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ

YÜKSEK LISANS TEZİ

ANKARA'DA ÇİĞ KARACİĞERDE HEPATİT E VİRÜSÜNÜN SAPTANMASI

Amtalsaboor Ahmed Abdulqudos Almahbashi

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. A. Mithat Bozdayı

Temmuz

2021

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının; akademik kural ve etik ilkelere bağlı kalınarak hazırlandığını, çalışmada yararlanılan ve bu çalışma ürünü olmayan bütün bilgiler için kaynak yayınlara atıfta bulunulmuş olduğunu beyan ederim.

Amtalsaboor Ahmed Abdulqudos Almahbashi

İmzası

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Ankara'da Çiğ Karaciğerde Hepatit E Virüsünün Saptanması

Amtalsaboor Ahmed Abdulqudos Almahbashi

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Prof. Dr. A. Mithat Bozdayı

Hepatit E virüsü, karaciğerde akut viral inflamasyona neden olan bir Hepatit E virüsü, karaciğerde akut viral inflamasyona neden olan bir RNA virüsüdür. Enfekte hayvansal ürünlerin tüketimi yoluyla bulaşabilir. Türkiye'de hepatit E virüsünün, hayvansal ürünlerin tüketilmesi ile bir bulaş kaynağı olabileceği ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bunun için Ankara'da tüketilmek üzere satılan hayvanların karaciğerlerinde hepatit E virüsü RNA'sı içerip içermediğini bulmayı amaçladık. Mezbaha ve Kasaplardan toplam 65 karaciğer örneği toplandı (22 koyun örneği ve 43 inek örneği). Daha sonra viral RNA izolasyonu, cDNA sentezi yapıldı. GAPDH dahili kontrolü ve HEV pozitif standardı kullanılarak tüm numuneler için gerçek zamanlı PZR yapıldı. Bu örneklerde hepatit E virüsü RNA'sı saptanmadı. Bu sonuçlar, numune toplama döneminde kesim öncesi hayvanların sağlıklı olmasıyla açıklanabilir ya da hayvanlara HEV bulaşmış ama iyileşmişler, bu nedenle karaciğerin kesimden çok önce HEV RNA'sından arınmış olduğu düşünülebilir. Veya RNA miktarı, gerçek zamanlı PZR reaksiyonu için kullanılan standardın 1.25 x 10^2 IU/mL'sinden daha az olabilir. Bu sonuçlarla Ankara'da örnek toplama sürecinde koyun ve sığır karaciğerlerinin hepatit E virüsü ile enfeksiyon kaynağı olmadığını söyleyebiliriz. Türkiye'de HEV yüksek seroprevalansı göz önünde bulundurulduğunda, yine de nedeni olabilecek diğer olası kaynakların araştırılmasına ihtiyaç vardır. Ayrıca yiyeceklerin iyi pişirilmesi ve önleyici tedbirlerin alınması ve hayvanlarda enfeksiyonun kontrol altına alınması gerekmektedir.

2021, 81 sayfa

Anahtar kelimeler: HEV, Hepatit E Virüsü, qRT-PCR, Karaciğer, Ankara.

ABSTRACT

Master Thesis

Detection of Hepatitis E Virus in Raw Liver in Ankara

Amtalsaboor Ahmed Abdulqudos Almahbashi

Ankara University Biotechnology Institute

Prof. Dr. A. Mithat Bozdayı

Hepatitis E virus is an RNA virus that causes acute viral inflammation in the liver. It can be transmitted through the consumption of infected animal products. There are not enough studies in Turkey regarding the possibility of the hepatitis E virus being a source of transmission through the consumption of animal products. For this purpose, we aimed to find out whether the livers of animals sold for consumption in Ankara contain hepatitis E virus RNA. A total of 65 liver samples were collected from Slaughterhouses and Butchers (22 sheep samples and 43 cow samples). Then viral RNA isolation and cDNA synthesis were performed. Real-time PCR was performed for all samples using the GAPDH internal control and the HEV positive standard. No hepatitis E virus RNA was detected in these samples. These results can be explained by the pre-slaughter animals being healthy during the sample collection period, or the animals were recovered from the infection of HEV so that the liver was free of HEV RNA long before the slaughter process. Or the amount of HEV RNA may be less than 1.25×10^2 IU/mL of the standard used for the real-time PCR reaction. With these results, we can say that sheep and cattle livers are not a source of infection with hepatitis E virus during the sample collection process in Ankara. Considering the high seroprevalence of HEV in Turkey, there is still a need to investigate other possible sources that may be the cause. In addition, it is necessary to cook the food well and take preventive measures and control the infection in animals.

2021, 81 pages

Keywords: HEV, Hepatitis E Virus, qRT-PCR, Liver, Ankara.

TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans eğitimim boyunca bana her türlü desteği sağlayan, tez çalışmalarımda bilgisiyle ve önerileriyle beni yönlendiren ve laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. A. Mithat BOZDAYI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım süresince bana engin bilgileriyle katkıda bulunan ve tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli Sayın Esra YURDCU'ya, Tez çalışmamın deneysel aşaması için her türlü imkân ve olanakları bana açan Ankara Üniversitesi Hepatolooji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarımın ve tezimin her aşamasında yanımda olan destek ve yardımları için sevgili eşim Ahmed'e de teşekkür ederim.

İÇINDEKILER

ETİK BEYAN i

ÖZET ii

ABSTRACT iii

TEŞEKKÜR iv

İÇINDEKILER v

ŞEKİLLER DİZİNİ viii

ÇİZELGELER DİZİNİ ix

SİMGELER DİZİNİ x

1. GİRİŞ. 1

2. KURAMSAL TEMELLER 2

2.1. HEV'İN TARİHÇESİ VE KEŞFİ 2

2.2. HEV GENOM YAPISI 3

2.3. HEV'İN GENOTİPLERİ VE DÜNYA ÇAPINDA DAĞILIMI 4

2.4. HASTALIK ŞİDDETİ VE GENOTİP 5

2.5. HEPATİT E VIRÜSÜNÜN YAŞAM DÖNGÜSÜ 6

2.5.1. VIRÜSÜN GİRİŞİ 6

2.5.2. ÇOĞALTMA 7

2.5.3. MORFOGENEZ VE SALIM 7

2.6. HEPATİT E'NİN HAYVAN REZERVUARLARI 8

2.7. VİRÜSÜN BULAŞMASI 9

2.7.1. SU KAYNAKLI ILETIM 9

2.7.2. ZOONOTIK ILETIM 11

2.7.3. HEV IÇIN DIKEY TRANSMISYON 12
2.7.4. KAN VE ORGAN NAKLI 13
2.7.5. DOĞRUDAN TEMAS 13
2.8. HEPATİT E VİRÜSÜ ENFEKSİYONUNUN TEŞHİSİ 14
2.9. HEV'İN ÖNLENMESİ 15
2.10. GIDA VE HEPATIT E VIRÜSÜ 16
3. GEREKÇE VE AMAÇ 17
4. MATERYAL VE YÖNTEM 19
4.1.1. MATERYAL 19
4.1.2. ÖRNEKLER 19
4.1.2. KIMYASALLAR 19
4.1.3. NUMUNE HAZIRLAMAK IÇIN ARAÇLAR 20
4.1.4. CİHAZLAR 20
4.1.5. KITLER VE ENZIMLER 21
4.1.6. PRIMERLER VE PROBLAR 21
4.1.7. HEV RNA STANDARTLARI 22
4.2. YÖNTEM 22
4.2.1. KARACIĞER ÖRNEKLERINDEN VIRAL RNA EKSTRAKSIYONU 22
4.2.2. cDNA'NIN SENTEZI 23
4.2.3. GERÇEK ZAMANLI-PZR 24
5. ARAŞTIRMA BULGULARI 26
5.1. KOYUN KARACİĞER ÖRNEKLERİ 27
5.1. İNEK KARACIĞERI ÖRNEKLERI 27

6. TARTIŞMA 31

7. SONUÇ VE ÖNERİLER 36

KAYNAKLAR 38

ÖZGEÇMİŞ 58

TEZDEN ÇIKAN YAYINLARİ 59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. HEV genom yapısı (23)..... 4

Şekil 2.2. Hepatit E virüsünün zarfları (24)..... 4

Şekil 2.3. Dört majör HEV genotipleri (HEV-1 HEV-4) coğrafi dağılımı (31)..... 5

Şekil 2.4. Yaşam döngüsü adımları (29) 8

Şekil 4.1. Numune toplama özeti..... 19

Şekil 5.1. Ankara belediyelerinde örnek toplama alanları..... 26

Şekil 5.2. Hayvan türlerine ve Ankara belediyelerine göre ciğer örnekleri sayıları 27

Şekil 5.3. Standartlarla gerçek zamanlı PZR'de bazı karaciğer örneklerinin sonuçları..... 30

Şekil 5.4. Gerçek zamanlı PZR'de numunelerin GAPDH sonuçları 30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Kullanılan cihazlar, markalar ve modeller 20

Çizelge 4.2. HEV'nin primerleri ve probları (149) 21

Çizelge 4.3. GAPDH'in primerleri ve probları(150) 22

Çizelge 4.4. Termal döngüleyici PZR ayarları 24

Çizelge 5.1. Koyun karaciğerlerindeki sonuçlar 28

Çizelge 5.2. İnek karaciğerlerindeki sonuçlar 29

SİMGELER DİZİNİ

µl	Mikrolitre
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ASGR	Asialoglikoprotein Reseptörü
cDNA	Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit dna
dk	Dakika
FHY	Fulminan Hepatik Yetmezlik
GAPDH	Gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz
GRP78	Glikoz Düzenlenmiş Protein 78
HAV	Hepatit A Virüsü
HBV	Hepatit B Virüsü
HCV	Hepatit C Virüsü
Hel	RNA Helikaz
HEV	Hepatit E Virüsü
HE-VLP	Hepatit E Virüsü Benzeri Parçacık
HSC70	Isı-Şok Koniat Proteini 70
HSP90	Isı-Şok Protein 90
HVR	Hiperdeğişken bölge
IRES	Dahili ribozom giriş bölgesinden
IU	İnternasyonel-uluslararası ünite
KAE	Klatrin Aracılı Endositoz
LOD	Tespit sınırı
m7G	7-metilguanosin

MeT	Metiltransferaz
mg	Miligram
ml	Mililitre
ORF	Açık Okuma Çerçeve
PCP	Papain Benzeri Sistein Proteazı
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RdRp	RNA' ya Bağımlı RNA Polimerazıdır
RNA	Ribonükleik asit
TT-HEV	Transfüzyonla bulaşıcı Hepatit E virüs
WHO	Dünya Sağlık Örgüt

1. GİRİŞ.

Geçmişte Hepatit E virüsüne non-A ve non-B hepatit deniyordu. M. Balayan virüsün varlığını 1980'lerde elektron mikroskobu ile keşfetmiştir (1). Hepatit A enfeksiyonu gibi, hepatit E enfeksiyonu da su kaynaklı bir hastalıktır, ancak dünyadaki akut viral hepatitin en yaygın nedenidir. HEV gelişmekte olan ülkelerde akut ve endemik enfeksiyonlara sebep olmaktadır ve gelişmiş ülkelerde sporadik enfeksiyonlara neden olmaktadır (2). Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda kronik hepatite de neden olabilir. HEV'in yılda yaklaşık 20 milyon vakayı enfekte ederek 3 milyon semptomatik vaka ve yaklaşık 44 bin HEV ile ilişkili ölümle sonuçlandığı tahmin edilmektedir (3). Dünya nüfusunun üçte birinin hayatlarının bir noktasında HEV virüsü ile enfekte olması bekleniyor (4). Hamile kadınlar için ölümcül bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Ne yazık ki, HEV salgınları üzerine yapılan son araştırmalarda, HEV'in genç ve sağlıklı yetişkinler için ölümcül bir hastalık olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca HEV enfeksiyonu kronik karaciğer hastalığı olan stabil bireylerde mortaliteyi artırabilir (5). HEV enfeksiyonunun klinik belirtileri ve semptomları diğer hepatit virüslerinden ayırt edilemez, ancak çoğu durumda kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyondur. Bununla birlikte, üçüncü trimesterde gebeler arasında yüksek mortalite, HEV'in ayırt edici özelliklerinden biridir (6). HEV enfeksiyonundaki yüksek mortalite nedenlerinin çoğu Fulminan Hepatik Yetmezliği (FHY) komplikasyonlarından kaynaklanmaktadır (7). Türkiye'deki sistematik bir incelemede, HBV ve HCV prevalansının sırasıyla %4 ve %1 olduğu, HEV'in ise HBV ve HCV'ye kıyasla daha yüksek % 12.4'e kadar çıktığı görülmüştür, buna rağmen HEV enfeksiyonu göz ardı edilmiştir (8).

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1.HEV'İN TARİHÇESİ VE KEŞFİ

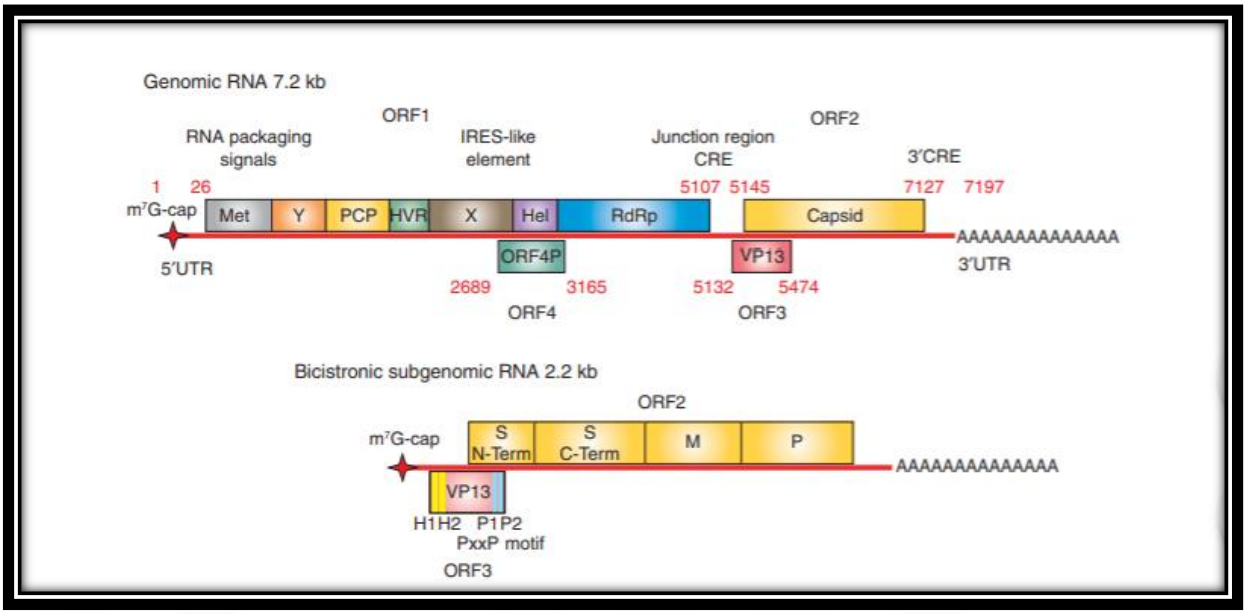
Hepatit E virüsü, insanlarda akut hepatite neden olan beş karaciğer virüsünden biridir ve en gizemli, en az anlaşılanı ve kesinlikle en az çalışılmış olanıdır. Kaydedilen ilk salgın sarılık salgını, 1858'in ilkbahar ve yaz aylarında Saint-Pierre, Martinik'te gerçekleşti ve gözlemlenen semptomlar sarı humma veya hepatit A virüsü ile ilgili değildi, bu nedenle büyük olasılıkla hepatit E virüsünden kaynaklanıyordu (9). 1950'lerde Hindistan'da, akut hepatit salgınına neden olan bilinmeyen tipte bir hepatit şüphesi vardı. (10) Ayrıca 1970'lerde Keşmir'de, hepatit A veya B ile ilişkili olmayan başka bir akut hepatit salgını meydana geldi (1). Tüm bu salgınlar yeni bir virüsün varlığını doğruladı. Özellikle ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri'nden Stephen M. Finston'un hepatit A virüsünü keşfetmesinden ve hepatit A virüsü için spesifik antikor testleri geliştirmesinden sonra, bu testlerin bu salgınlara HAV'dan kaynaklandığını reddetti (11). 1980'lerde, Rus virolog Michael S. Balayan bu virüsü immünoelektron mikroskobu ile test etti. Bu nedenle önceki salgınların nedeninin hepatit E olduğunu doğruladı. 1980'de Afganistan'da Rus askerleri arasında hepatit salgını Ruslar için en engelleyici şeydi ve enfeksiyonun nedenini anlamak için Balyan, enfekte olmuş askerlerin dışkısını yuttu ve kendine bulaştırdı. Dışkıyı yutmaktan 36 gün sonra, Balayan hepatit geliştirdi, ama HAV antikorları yükselmedi. Balayan ve meslektaşları, numunesini immüno-elektron mikroskobu ile inceledikten sonra, yutulduktan 28 ila 45 gün sonra topladığı örneklerinde 27-30 nm'lik yeni virüs benzeri partiküller belirlediler. Bu şekilde Balayan, salgınlara neden olan ajanı HEV olarak tanımladı ve yararlı serolojik araçlar ve bir hayvan modeli geliştirdi (9, 12). Balayan, HEV'in kendi kendine deneyini yapan tek kişi değildi. Ancak Ashok Chauhan da 1990'da Kuzey Hindistan'da bir hepatit E salgınında bir hastadan bir dışkı alarak kendi kendine bir deney yaptı (13).

HEV'nin yalnızca bu son yüzyılda keşfedildiği bilinmesine rağmen daha eski olduğunu düşünülmektedir (14). Şu anda mevcut HEV gen dizisinin moleküler saat analizi, 500 ila 1.300 yıl önce var olan ortak bir atayı gösterdiği eski bir virüs olduğunu açıklayabilmektedir (14). Birkaç yıl sonra HEV genomunun moleküler klonlanması yapıldı ve HEV genotiplerinin tanımlanmasına yol açtı (15).

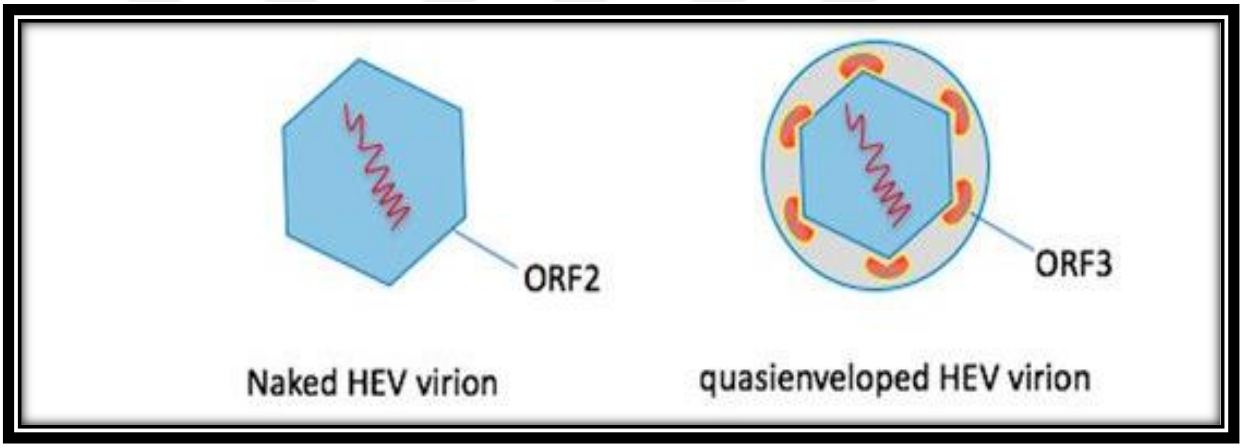
2.2. HEV GENOM YAPISI

HEV, 27-34 nm çapında küçük, zarfsız bir virüstür (16). *Hepevirüs* cinsinin ve *Hepeviridae* ailesinin bir üyesi olarak sınıflandırılır. HEV, tek sarmallı yaklaşık ~7200 nükleotid uzunluğunda pozitif polar RNA genomuna sahipken, kuş HEV genomu ise yaklaşık ~6650 nükleotid uzunluğundadır (17). Genom, 5' uçlarında bir 7-metilguanosin RNA başlığı içerir ve 3' ucunda poliadenile edilir. Tüm genotiplerde genom, 7-metilguanosin (m7G) ile kaplı kısa bir 5' çevrilmemiş bölgeden (27 ila 35 nükleotid) oluşur. Ardından sırayla üç açık okuma çerçevesi (ORF1, ORF3, ORF2) içerir (18). ORF1, replikasyon ve protein işlenmesi için gerekli olan çeşitli fonksiyonel birimlerle yapısal olmayan bir poliproteini kodlar; bunlar arasında metiltransferaz (MeT), papain benzeri sistein proteaz (PCP), RNA helikaz (Hel), hiper değişken bölge (HVR) ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) dır. Bilinmeyen fonksiyon bölgelerinin yanı sıra (Y, H ve X) (19). Öte yandan, ORF3, hücresel ortamı (VP13 olarak da bilinir) düzenleyen küçük bir düzenleyici fosfoprotein kodlar. Ek olarak ORF2 viral çekirdek proteini ve kapsid proteinini kodlayan önemli bir çerçevedir, burada kapsid proteini bir aşı adayı olarak test edilebilir. Ancak bu kapsiddeki mutasyonlar aşı gelişimini etkileyebilir (20). 3' ucun çevrilmemiş bölgesi 65 ila 74 nükleotit uzunluğundadır ve 150 ila 200 nükleotit uzunluğunda bir poli (A) ucu ile sonlanır. ORF2 ve ORF3 proteinleri, 2.2 kb uzunluğunda bir bisistronik subgenomik RNA'dan çevrilir. Bu üç ORF'ye ek olarak, HEV genotip 1 ORF4'ü kodlar. ORF4, endoplazmik retikulum (ER) stresine yanıt olarak dahili ribozom giriş bölgesinden (IRES) bir protein üretir. Ayrıca ORF4 proteini bir viral replikasyon arttırıcıdır (Şekil 2.1.) (18).

Ayrıca, hepatit E virüsü zarfsız bir virüs veya yarı zarflı bir virüs olarak da ortaya çıkabilir. Kapsid kabuğu virüsü sarar ve virüsü zarfsız (~ 30nm) virüsten yaklaşık 10 nm daha büyük yapar. Bu kabuk, zarflı virüsler için koruyucu bir kaplama görevi görür (Şekil 2.2.). Bununla birlikte, her iki form da bulaşıcıdır, ancak zarfsızlar diğerlerinden 10 kat daha bulaşıcıdır (21, 22).



Şekil 2.1. HEV genom yapısı (23)

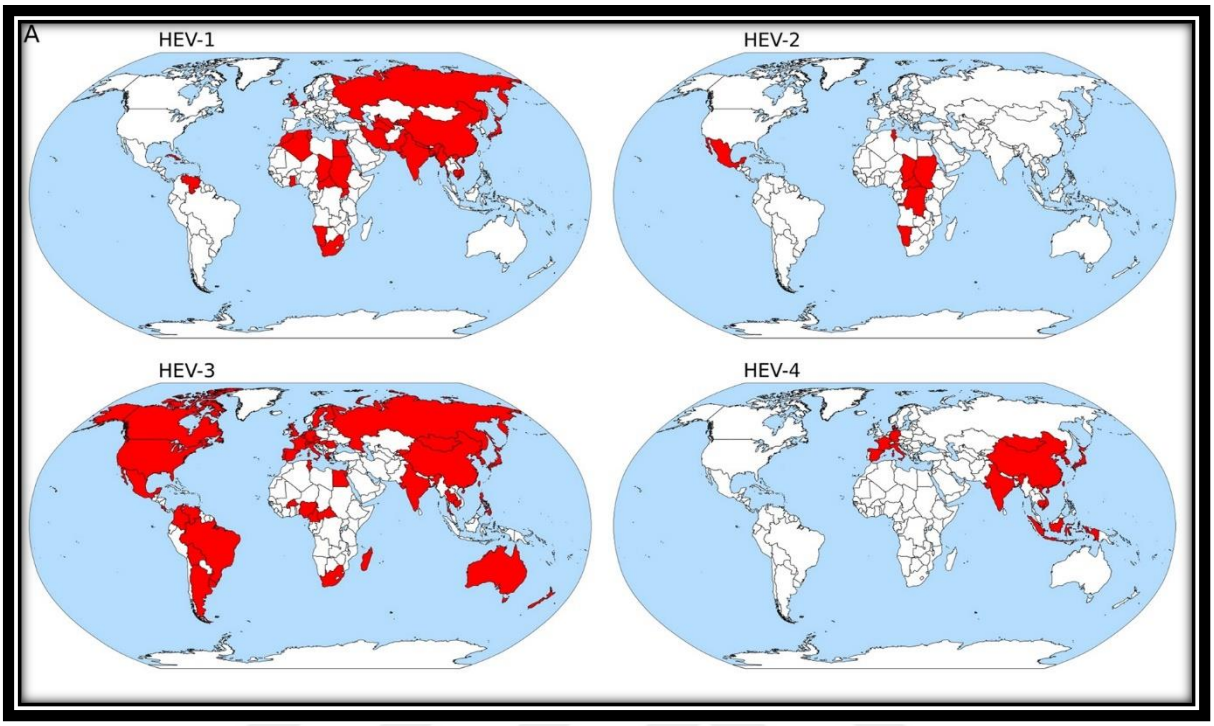


Şekil 2.2. Hepatit E virüsünün zarfları (24)

2.3. HEV'İN GENOTİPLERİ VE DÜNYA ÇAPINDA DAĞILIMI

Son zamanlarda Hepatit E virüsünün sekiz genotipi bulunmuştur. (25). HEV'in ilk iki genotipi insanlarla sınırlıdır. Ve esas olarak fekal-oral yolla bulaşırlar. Bu nedenle coğrafi olarak Asya, Afrika ve Meksika gibi tropikal ve endemik bölgelerle sınırlıdırlar (26). Üçüncü genotip dünya çapında dağılmıştır ve memeli türlerinin çoğunu (domuz, yaban domuzu, geyik, firavun faresi ve Japon makakları) enfekte ederken, dördüncü genotip insanlar ve domuzlar arasında dolaşır. Genotip 3 ve 4, insanlarda Amerika'da ve Avrupa'da sporadik enfeksiyonlar olarak keşfedilene kadar zoonotik genotipler olarak biliniyordu. Çünkü enfekte hayvanlardan çiğ veya az pişmiş et yiyerek insanlara tesadüfen bir konakçı olarak bulaştılar (27, 28). Şekil 2.3.'te insanı enfekte eden hepatit E virüsünün 4 genotipinin küresel dağılımı görülmektedir (29). Bununla birlikte, yaban domuzlarında bulunan HEV5 ve

HEV6, HEV7 ve HEV8 genotipleri yakın zamanda tek hörgüçlü develerde ve bakteri develerinde tanımlanmıştır (30).



Şekil 2.3. Dört majör HEV genotipleri (HEV-1 HEV-4) coğrafi dağılımı (31).

2.4. HASTALIK ŞİDDETİ VE GENOTİP

HEV RNA'nın filogenetik analizi, HEV'in genotip, epidemiyolojik ve klinik öneme göre gruplara ayrılmasına izin verir. İlk dört genotip, majör olarak kabul edilir ve esas olarak insanlarda görülür ve son dört genotip, insanları nadiren enfekte edebilir. HEV1 genotipinin hastalık şiddetinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir (4). Bazı çalışmalar, HEV enfeksiyonunun patogenezinde ve ciddiyetinde viral genotiplerin ve alt tiplerin önemini doğrulamıştır (32). HEV virüs genotipinin patojenitesini laboratuarda implante edilmiş fetal plasenta dokusunda HEV-1 ve HEV-3 virüs genotipleriyle enfekte ederek, bu genotipleri karşılaştırmak için bir çalışma yürütüldüğünde, her iki HEV genotipinin de plasental dokuyu enfekte edebildiğini, ancak HEV-1' genotipinin daha yüksek şekilde çoğaldığı, daha yüksek miktarlarda bulaşıcı virüs ürettiği ve dokularda ciddi morfolojik değişikliklere neden olduğu görülmüştür (33). Bu da bize genotipin gebelik döneminde anne veya fetüs için hamilelik sırasında ölüme neden olmada önemli bir rol oynayabileceği açıklayabilir. Bu aslında en yaygın HEV genotipin 1 olduğu ve hamile kadınlarda ölüm oranında yüksek bir artış olduğu Hindistan'da görülmüştür (34, 35). Bununla birlikte, yapılan başka bir çalışmada HEV1 genotipinin Mısır'daki majör genotip olduğu, ancak ölüm oranının düşük olduğu

gösterilmiştir. Bu, genotipin ve sub-tip varyasyonunun ve gelişmekte olan ülkelerdeki coğrafi ortama atfedilebilecek çok ilginç bir gözlemdir (36, 37).

Öte yandan, hepatit E virüs genotip 3, az pişmiş et tüketimi nedeniyle sanayileşmiş ülkelerde akut hepatitin majör nedensel faktörüdür. Avrupa'da 3c ve 3f alt genotiplerinde HEV 3' genotipinin iki majör sub-tipi bulunur. Bir çalışma, sub-tip HEV 3f'ye sahip Fransız hastaların, sub-tip 3c'ye göre daha fazla ateşle ilişkili olduğunu göstermiştir (38). Genotiplerin ve sub-tiplerin, dünyanın farklı gelişmiş ve gelişmekte olan bölgelerinde hastalık şiddetinde büyük bir rol oynadığı görülmektedir.

2.5. HEPATİT E VIRÜSÜNÜN YAŞAM DÖNGÜSÜ

HEV virüsünün yaşam döngüsü hala tam olarak bilinmemektedir ve daha fazla araştırmanın yapılması gerekmektedir. Ancak virüsün yaşam döngüsünde keşfedilenleri ve olabilecek beklentileri açıklamaya çalışıyoruz. Bilindiği gibi, virüsün yaşam döngüsü hepatositlerin sitoplazmasında gerçekleşir. Son zamanlarda ince bağırsak, kolon ve lenf düğümlerinde HEV'in negatif anlamlı RNA'sı tespit edilmiştir. bu nedenle virüsün vücuttaki farklı organlarda çoğalma yeteneği olduğu söylenebilir (39, 40). Yaşam döngüsü üç ana adımdan geçer, bunlar virüsün hücreye girişi, enfekte olmuş hücre içinde replikasyon ve virüsün salınmasıdır (41). Bu aşamalar sırasıyla aşağıda anlatılmıştır (Şekil 2.4.).

2.5.1. VIRÜSÜN GİRİŞİ

Bilindiği gibi, endositoz, kaveola aracılı endositoz, klatrin aracılı endositoz ve makropinositoz gibi çoğu virüsün ortak giriş mekanizmasıdır. *E. coli* kaynaklı HE-VLP'ler (Hepatit E Virüsü Benzeri Parçacık) kullanılarak HEV'in hücre girişi araştırıldı ve HEV girişinin klatrin aracılı endositoz (KAE) yoluyla gerçekleştiği görülmştür. KAE, zarın sitoplazmik fazında bir klatrin kaplaması yardımıyla partiküllerin hücrelere paketlenmesiyle karakterize edilir (42, 43). Bazı çalışmalara göre, zarflanmamış HEV veya yarı zarflı eHEV için giriş mekanizmaları farklı görünmektedir, ancak en azından bu iki form içinde HEV alımı KAE'ye bağlıdır. Ayrıca, zarfsız HEV ve yarı zarflı eHEV formlarının girişi farklı kinetiklerle gerçekleşir. Zarfsız HEV, yarı zarflı HEV'ye kıyasla daha hızlı bir giriş kinetiği gösterir (21). HE-VLP'lerin kullanıldığı çalışmalarda, viral bağlanma ve hücre yüzeyinde alım için heparan sülfat proteoglikanlara ihtiyaç olduğu görülmüştür (44).

Yeni bir rapora göre, HEV giriş sürecinde ORF2'nin asialoglikoprotein reseptörüne (ASGR) bağlanması için gerekli olduğu gösterilmiştir (45). Ayrıca, zarflanmamış parçacıkların

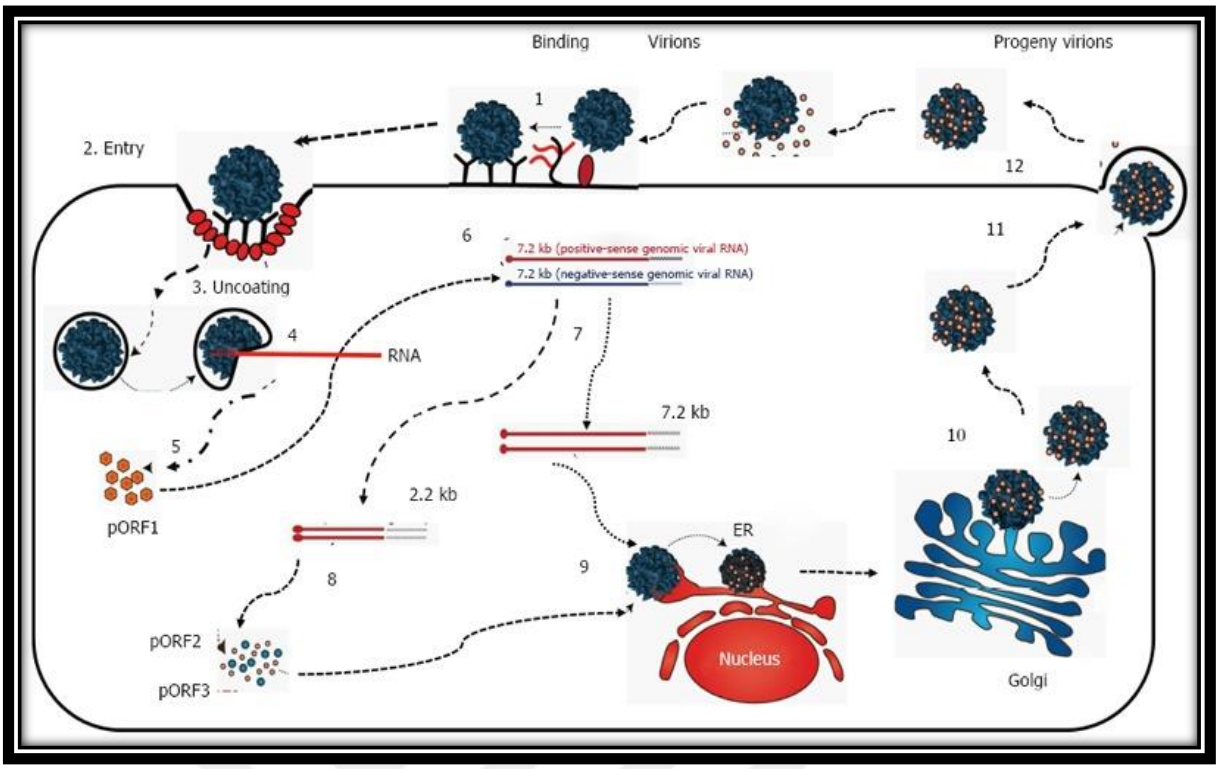
alımının, pORF2, ısı şoklu kognat protein 70 (HSC70) veya ısı şoku proteini 90 (HSP90) veya glikozla düzenlenmiş protein 78 (GRP78) ile etkileşime girdiğinde gerçekleşebileceği de gösterilmiştir ve klatrin kaplı çukurlara tomurcuklanmaya yol açarlar (41).

2.5.2. ÇOĞALTMA

Virüsün hücreye girmesinden sonra poliprotein çevrilir. Daha sonra viral RNA'nın replikasyonu, negatif iplikli RNA'nın RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRP) tarafından sentezi için devam eder. Negatif sarmallı RNA'dan iki farklı RNA sentezlenir. Bunlar 2.2 kb uzunluğundaki subgenomik RNA ve tam uzunluktaki genomik RNAdır. Subgenomik RNA, kapsid proteini ORF2 (72 kDa) ve ORF3 proteininin (13 kDa) çevrilmesi için bir şablon görevi görür. tam uzunluktaki genomik RNA, ekstra negatif iplikli RNA sentezi için bir şablon olarak çalışır veya ORF1 çevirisi için bir şablon olarak çalışır ve viral partiküller halinde paketlenir (41). ORF1, metiltransferazla başlayıp ardından Y alanı, PCP alanı, hiperdeğişken alan, ön alan, X alanı, helikaz alanı ve RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) ile biten yedi alan içerir. HEV helikaz, NTPaz aktivitesine sahiptir ve çift yönlü RNA'ları 5 ′ ila 3 ′ yönünde çözer. HEV RdRp, viral replikasyon için gereklidir ve çeşitli şablon afiniteleri gösterir (46). RdRp, hata düzeltme aktivitesinden, bu nedenle virüs hızlı gelişebilir ve nükleozid analogları ile tedavilerden kolayca kaçabilir (47). HEV rdRp yüksek derecede hataya açık bir RNA polimeraz olduğundan, miR-122 için bir hedef dizinin HEV1 genomlarında korunması şaşırtıcıdır. MiR-122'nin HEV replikasyonunu kolaylaştırmak için HEV genomundaki hedef bölgeye bağlandığına inanılmaktadır (48).

2.5.3. MORFOGENEZ VE SALIM

ORF3'ün, HEV'nin enfekte hücrelerden salınması için kritik olduğu kanıtlanmıştır. Ancak virüsün enfeksiyonunda, replikasyonunda ve birleşmesinde hiçbir rol oynamamaktadır. ORF3 proteini, fosforilasyonda ve kapsid proteini ve hücresel bileşenlerle etkileşimde rol oynar (49). ORF3, virüsün yaşam döngüsünde farklı işlevler başarıyor gibi görünmektedir. Ayrıca ORF3 proteini bir iyon kanalı olarak tanımlanmıştır (50). Ayrıca ORF3'teki iki PSAP motifinin viral salımda önemli olduğu bildirilmiştir. Viral salınımve replikasyon ile ilgili bu kavramlar ve giriş hala zayıftır ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (51).



Şekil 2.4. Yaşam döngüsü adımları (29)

1- HEV, heparin sülfat proteoglikanlar yardımıyla hepatositlerin yüzeyine yapışır. 2- Bir reseptöre bağlanır ve (KAE) ile hepatositlere girer. 3- Virüs kaplanmamış. 4- RNA serbest bırakılmış. 5- Virüsün yapısal olmayan proteinleri çevrilmiştir. 6-Pozitif-sens viral RNA, (RdRp) yardımıyla negatif sens RNA'ya kopyalanır. 7- Negatif sens RNA, 7.2 kb pozitif sens RNA ve 2.2 kb sub-genomik RNA için şablon haline gelir. 8- pORF2 ve pORF3, şablon olarak sub-genomik RNA yardımıyla oluşturulur. 9-pORF2 proteini, genomik RNA ile yeni virionda birleşirken, pORF3 viral replikasyonu optimize eder. 10-virion, hepatositlerden çıkar 11- pORF3 ve lipid tabakası ile kaplanır.12- Hem pORF3 hem de lipid tabakası, hepatositlerden çıktıktan sonra viriondan ayrılır.

2.6. HEPATİT E'NİN HAYVAN REZERVUARLARI

Hepatit E, hayvanların ana rezervuar olduğu ve ona ev sahipliği yaptığı zoonotik bir hastalıktır. Serolojik ve moleküler analizler geniş bir aralıkta ve farklı hayvan türlerinde anti-HEV veya HEV virüsünün varlığını göstermiştir. Bu araştırmalar çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar, laboratuar hayvanları veya vahşi hayvanları içermekteydi. Bu hayvanların bazıları için, farklı coğrafi bölgelerde belirli bir HEV genotipinin sık ve sürekli keşifleri olmuştur; bu, hayvanın gerçek bir hayvan rezervuarı olduğunu gösterir. Diğer hayvan türlerinde, HEV çok az tespit edilmiştir ve bu dolaylı bir enfeksiyona işaret edebilir (52). Evcil domuzlar ve yaban domuzları, dünya çapındaki HEV suşlarının 3 ve 4 genotiplerini ileten virüsün en önemli rezervuarlarıdır (53). Fransa'da yapılan bir çalışmada saf yaban domuzlarında hepatit E virüsü enfeksiyonu prevalansı %26, hibrit yaban domuzları%43,5 ve

evcil domuzlarda %88'dir ki bu domuzlar arasında çok yüksek bir orandır. Üretim zincirleri olan domuz çiftlikleri bulaşın olması virüsü daha da yayabilir ve domuzlar ve insanlar için büyük bir risk oluşturabilir (54-56). Danimarka'da doğumdan kesime kadar 104 domuzda yapılan bir çalışmada, domuzların%65,5'inin çalışma sırasında en az bir kez HEV RNA için pozitif olduğu ve domuzların çoğunun 13-17. haftalar arasında HEV için pozitif olduğu bulundu. Ayrıca virüs, kesimden sonra domuzların dışkılarında ve çeşitli organlarında görüldü (57). Kanada, Almanya ve Finlandiya'da yapılan çeşitli çalışmalarda geyiklerin virüsle enfekte olduğu ve hayvan rezervuarı olarak tespit edildiğinden, domuzlara ek olarak geyik hepatit E virüsü için bir rezervuar olarak da bulunmuştur (58-60). Ayrıca virüsün geyikler arasında yayılımının İspanya'da %16,05 ve İtalya'da %13,9 olduğu tespit edildi, bu da geyiğin aynı zamanda virüsün birincil rezervuarı olduğunu gösteriyor (61, 62). Domuz ve geyiklerin yanı sıra, HEV antikorları, sıçanlar, kediler, köpekler, gelincikler, inekler, keçiler, koyunlar, kuş türleri, atlar ve tavşanlar dahil olmak üzere diğer birçok hayvan türünde de tespit edilmiştir. Bu, hayvan türlerinin HEV ile enfekte olduğunu ve virüsün diğer hayvanlara bulaşmasında rol oynadığını gösterilmiştir. (63-71). Benzer şekilde deneysel laboratuar çalışmalarında maymunlara virüs enjekte edildiğinde virüsün rezervuarı haline geldiği, buna ek olarak çoğu hayvanın semptomsuz olarak virüsle enfekte olduğu bulunmuştur (52). Son olarak, HEV'li tüm enfekte hayvanlar, virüsün diğer hayvanlara ve insanlara bulaşmasında rol oynar.

2.7. VİRÜSÜN BULAŞMASI

Tüm virüsler gibi hepatit E virüsü de farklı toplumlarda uygun koşullar altında farklı yollarla bulaşmaktadır. Bu virüsün genellikle düşük hayat ve sağlık standardına sahip gelişmekte olan ülkelerde salgın olarak bulaştığı bilinmesine rağmen, yüksek yaşam ve sağlık standardına sahip gelişmiş ülkelerde hala sporadik enfeksiyonlar olarak bulaşmaktadır (72). Virüsün bulaşmasının en yaygın yolu, kirli su, iyi pişirilmemiş ve kirlenmiş gıdalardır. Virüsün enfekte kan transfüzyonu yoluyla bulaşması, hamile bir anne ile fetüsü arasında dikey geçiş ve enfekte insan veya hayvanlarla temas da bulaşmaya katkıda bulunan yollardır (73). Bu Bulaş yolları aşağıda ayrıntılı olarak açıklanacaktır:

2.7.1. SU KAYNAKLI ILETIM

Hepatit E virüsünün kontamine su yoluyla bulaşması birincil yoldur. Su, enfekte bir kişi veya hayvanın dışkısı yoluyla virüsle kirlenir. Ayrıca, virüsün su yoluyla bulaşması salgın enfeksiyonlar ile bağlantılıdır, çünkü içme suyu kaynağı belirli bir bölgeyi kirletir, sonra o

bölgede yaşayan ve bu suyu içmek için kullanan herkes enfekte olur. Bu virüs enfekte kişilerin dışkısından salgılanan virüslerin içme suyu kaynağına ulaşmasına izin veren yetersiz sanitasyon nedeniyle gelişmekte olan, sınırlı veya orta gelirli ülkelerde yayılır. Ayrıca insan dışkısının nehirlere atılması ve nehirlerinde içme suyu kaynağı olarak kullanılması virüsün yayılmasına yardımcı olmaktadır (74). En eski rapor, 1955'te Hindistan'ın Yeni Delhi kentinde virüsün su yoluyla salgın şeklinde bulaştığını belgelemiştir (75). O zamandan beri, geçen yüzyılda Hindistan, Pakistan, Çin, Vietnam, Bangladeş, Meksika, Sudan ve Asya, Afrika ve Latin Amerika'daki diğer bazı ülkelerde su kaynaklı büyük salgınlar ve küçük salgınlar rapor edilmiştir (74). Bununla birlikte, yetersiz temizlik sadece gelişmekte olan ülkelerde bir enfeksiyon nedeni değil, aynı zamanda çatışma bölgelerinde ve savaş bölgeleri, mülteci kampları veya ülke içinde yerinden edilmiş nüfuslar gibi insani bakımdan acil durumlarda da ortaya çıkabilir. Şiddetli yağmurlar bile virüsün yayılmasında önemli bir rol oynayabilir. Bu vakalarda meydana gelen salgınlar genellikle virüs rezervuarının HEV ile enfekte insan olduğu birinci ve ikinci genotip ile ilgilidir (74).

Öte yandan, güvenli su kaynaklarının mevcut olduğu gelişmiş sanayileşmiş ülkelerde HEV salgınları rapor edilmemiştir. Bununla birlikte, su kaynaklı enfeksiyon, daha çok rezervuarın enfekte hayvan olduğu genotip 3 ve 4 ile dolaylı olarak meydana gelir (76). HEV ile enfekte olmuş domuzun gübresi suyu kirlettiğinden ve bu su mahsul tarlalarında sulama için kullanıldığında, mahsulü kirletebilir ve bu mahsuller insanları enfekte edebilir. Ayrıca, bu su nehir ve sahil sularına akarak kabuklu deniz hayvanlarını enfekte edebilir ve bu da sonuçta gelişmiş ülkelerdeki tüketiciler arasında hastalığa yol açabilir (77). İtalya'da, kanalizasyon ve nehir örneklerinde HEV genotip 3 tespit edilmiştir, bu da yüzey suyunun HEV maruziyetinin potansiyel bir kaynağı olabileceğini göstermektedir (78). Slovenya'da, yerel domuz çiftliklerinde dışkı örneklerinin% 20'sinde HEV genotip 3 görüldü ve yüzey suyu örneklerinin% 3.3'ü HEV RNA için pozitifti (79). Fransa'dan Belçika'ya ve Hollanda'ya kadar uzanan Meuse Nehri'nden toplanan ve eğlence ve içme suyu amaçlı kullanılan örneklerin% 17'sinde HEV 3 genotipi tespit edilmiştir (80). Ayrıca Çin'de deniz suyuyla kirlenmiş Bohai Körfezi kenarındaki istiridyelerde genotip 4 HEV suşları bulunmuştur (81). Bu, suyun ilk dört genotip ile hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde önemli bir virüs bulaşma kaynağı olduğunu göstermektedir.

2.7.2. ZOONOTIK ILETIM

Hepatit E virüs enfeksiyonu, zoonotik bir hastalıktır. Domuzlar, sığırlar, koyunlar, keçiler, geyikler, atlar, köpekler, kediler ve sıçanlar gibi birçok memeli türünde hepatit E virüsü ile eski veya yeni enfeksiyonun çok fazla serolojik kanıtı vardır (82). Ayrıca, hayvanların dışkısı ile HEV'nin atılması virüsün geniş bir aralıkta yayılmasına yol açtığı için bu hayvanların bazılarında da aktif bir viral enfeksiyon bulunmuştur (83). Oysa domuzlar, virüs için en önemli rezervuar hayvan olarak görüldükleri ve virüsün dünya çapında yayıldığı için en büyük ilgiyi çekmişlerdir. Ayrıca domuzlarda seroprevalans oranı %8 ila 93 arasındadır ve HEV 3 en yaygın genotiptir, ardından genotip 4'tür (84). Önemli olarak, birçok ülkede, mezbahalarda kesildikten sonra domuzlardan alınan dışkı, karaciğer, serum ve kas örneklerinde HEV RNA tespit edilmiştir (83). HEV'in insan besin zincirine domuz ürünleri şeklinde girebileceğini gösterilmiştir. HEV enfeksiyonu yaban domuzları arasında da yaygındır ve seroprevalans% 3 ila 57 arasında değişmektedir (85). Çalışmalarda, enfeksiyonun domuzlardan insanlara bulaştığına dair kanıtlar gösterilmiştir. Ayrıca kasaplar, et müfettişleri, domuz yetiştiricileri ve veterinerler gibi sürekli domuzlara maruz kalan kişiler, bu mesleklerde çalışmayanlara oranla daha yüksek HEV prevalansına sahiptir (86, 87).

Domuzlar, virüsün bulaştığı en iyi bilinen hayvan olsa da geyikler de enfekte olur ve geyikler arasında enfeksiyon oranı%35'e ulaşabilir (88). Aynı şekilde geyikler arasında virüsün yaygınlığı domuzlara göre daha düşüktür ve enfeksiyonun geyiklere yayılmasının sebebinin de domuzlar olduğuna inanılmaktadır. Virüsün kanda yayılmasının domuzlarda (%17), aynı habitatı paylaşan geyiklere (%4) kıyasla daha yüksek olduğu ve HEV suşlarının her iki türde de benzer olduğu bulunmuştur. (89). Ayrıca, İspanya'da yapılan bir araştırma da, domuzlarla geyikler arasında temasın olmadığı çiftliklerde geyikler arasında seroprevalans oranının, iki tür arasında temasın olduğu yabani popülasyonlara (% 14,9) göre önemli ölçüde daha düşük (% 2,6) olduğu bulunmuştur (90). Geyikten insana da gıda yoluyla virüs bulaşması için de çok güçlü bir bağlantı bulunmuştur.

Diğer çiftlik hayvanlarına gelince, birçok çalışma, süt inekleri de dahil olmak üzere ineklerin virüse bulaştığını ortaya konmuştur. Sığırların seroprevalansı Çin'de%28,2 ve Amerika Birleşik Devletleri'nde%15,1 idi (91, 92). Ayrıca koyun üzerinde yapılan iki çalışma, bir mezbahadan koyunların kesimde %35 ve %9,8 oranında serum pozitif olduğunu göstermiştir

(91, 93). HEV inekler ve koyunlar ile sınırlı değildi, aynı zamanda atlar, kediler, köpekler, sıçanlar ve tavşanlarla da bulunmuştur.(70, 94-96).

2.7.3. HEV IÇIN DIKEY TRANSMISYON

Dikey geçiş, hepatit E virüsü enfekte anneden fetüse geçtiğinde meydana gelir. Hepatit E kendi kendini sınırlayan bir hastalık olsa da özellikle gebeliğin son iki trimestirinde olmak üzere hamile kadınlarda ciddi sonuçları vardır. Hepatit E ile enfekte gebelerde % 20-30'a kadar çıktığı yüksek ölüm oranına sahiptir (97). Hamilelik sırasında komplikasyon riskinin nedeni büyük olasılıkla hamilelik sırasında bağışıklığın zayıflığı, hormonal değişiklikler ve hepatit E için viral faktörler gibi çeşitli etkenlerden kaynaklanmaktadır (98). Östradiol hormonundaki artışın, enfekte hamile kadınlarda virüsün üremesini artırdığı tespit edildi (99). Hamilelik sırasında Hepatit E virüsü enfeksiyonu, doğum kusurlarına, kendiliğinden düşüklere ve hatta ölüme yol açar (100). Ayrıca, enfekte hamile kadınlardan hepatit E virüsünün anneden bebeğe bulaştığı bildirilmiştir. Oysa hepatit E'nin komplikasyonları sadece anne ile sınırlı olmayıp, enfeksiyonun fetüse geçmesi ve doğumdan sonra ölüm, erken doğum veya ölüm meydana gelmesi ile fetusa ulaşmaktadır (98). Pakistan'da yapılan bir çalışmada (101), yirmi bir gebe kadına gebeliğin son üç ayında Hepatit E virüsü bulaşmış, on gebe kadının indüklü doğum eylemi gerçekleşmiş, üç gebe erken doğum yapmış, dört gebe kendiliğinden doğum yapmıştır (tam süreli). Üç kişi öldü ve hamile kadınlardan biri hastaneye gelmeden önce kürtaj yaptırmıştır. Bebeklere gelince, doğumu çevreleyen dönemde yedi bebek ölüp: 4 intrauterin ölüm, 3 fetüs ölümü ve bir düşük meydana gelmiştir. Virüs bulaşan annelerin ölümleri doğumla ilişkilendirilmiştir. Enfekte vakalar için ölüm oranı% 14,2 idi (101). Prasad ve arkadaşları (102), tarafından yapılan bir çalışmada anne ölüm oranının doğumdan önce %1 ölüm, prematüre yüzdesi (% 80) ve erken membran rüptürü (% 11) olmak üzere% 5 olduğunu gözlemlenmiştir. Dikey geçiş oranının%28 olduğunu belirtilmiştir. Gebelikte Hepatit E'nin sistematik bir incelemesinde (103), hepatit E virüsü taşıyan gebeler arasında yüksek oranda ölüm olduğu ve bu kadınlar ve bebekleri arasında yüksek oranda olumsuz sonuç olduğu bulunmuştur.

Virüsün anneden çocuğa dikey geçişini gösteren çalışmalar arasında yayınlanan ilk çalışma, annesi serolojik kanıtlara sahip sekiz bebekten altısında HEV'nin dikey geçişini belgelediği Khuroo ve arkadaşları (104), tarafından yapılan çalışmadır. Bu çalışmada doğumdan önce HEV enfeksiyonu ve RNAsı göbek kordonu kanında bulundu. Khuroo ve arkadaşları, enfeksiyonun nedeninin virüsün anneden çocuğa geçmesi olduğunu belirtti.

2.7.4. KAN VE ORGAN NAKLI

Kan ve organ transfüzyonu ve bağışı, birçok hastanın hayatını kurtarmak için önemli işlemdir, ancak hepatit E virüsü dahil virüslerle enfekte olmuş kan veya organların transfüzyonu sırasında riskler vardır. Hepatit E kendi kendini sınırlayan bir hastalık olmasına rağmen, bağışıklığı baskılanmış hastalarda daha şiddetlidir. Son 17 yılda Japonya'da kan transfüzyonu yoluyla HEV ile enfekte olmuş yirmi vaka kaydedilmiştir (105). Burada HEV ile kontamine kan alıcılarının yaklaşık %50'si HEV ile enfekte olmuştur. Bu alıcılar hematolojik, hematolojik metastazlar ve orta riskli kronik karaciğer hasarı olan karaciğer nakli alıcılarıydı. Bağışıklık baskıları var ve genel popülasyona göre HEV enfeksiyonuna daha duyarlıydılar. Ayrıca kan transfüzyonu ile en düşük enfeksiyöz HEV dozunun 3.6×10^4 IU olduğu bulundu. Fransa'da (106), kan yoluyla ilk HEV bulaşı vakası 2006 yılında tespit edilmiştir. 2006 ve 2016 yılları arasında 23 hastada hepatit E virüsü insidansı bildirilmiştir. Hastaların %61'inde akut hepatit E virüsü kronik hepatit E'ye dönüşmüş ve hastaların %9'unda ileri siroz tanısı konmuştur. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda hepatit E enfeksiyonunu önlemek için İrlanda ve Birleşik Krallık bağışlanan kanda HEV RNA testi yapmaktadır. Ayrıca Almanya ve Fransa başta yüksek riskli hastalara transfekte edilen kanlar olmak üzere birçok kan bankasında HEV RNA'sını inceliyor. Geri kalan Avrupa ülkeleri ise kan bankalarında bu virüsle ilgili önemli önlemler almaya çalışıyor (107). Son olarak, HEV'nin bulaşması kan ve organlar yoluyla gerçekleşebilir ve bu geçiş, bağışıklığı düşük olanlar için yüksek riskli kabul edilmiştir.

2.7.5. DOĞRUDAN TEMAS

Hayvanlar, Hepatit E virüsü için bir rezervuar rolünü üstlenirken ve etlerinin tüketimi özellikle gelişmiş ülkelerde tehlikeli bir enfeksiyon kaynağı iken, onlarla doğrudan temas da önemli bulaşma yollarından biridir (108). Seroprevalans çalışmaları, çiftçiler, veterinerler ve hayvanlarla ilgilenen işçiler gibi hayvanlara maruz kalan insanların anti-HEV IgG pozitif olma olasılığının genel popülasyona göre daha yüksek olduğunu ve HEV virüsüne yakalanma riskinin de yüksek olduğunu göstermektedir (109). Portekiz'de yapılan bir çalışmada veteriner hekimler, çiftçiler ve kasaplardan alınan IgG oranının kan bağışçılarından daha yüksek olduğu bulundu. Bu, enfekte domuzlarla temasın, HEV'in domuzlardan insanlara bulaşması için bir risk faktörü olduğunu ve domuz yetiştiricileri ve veteriner hekimlerin HEV enfeksiyonu açısından da riskli bir grup olduğunu açıklar (110). Domuzlar ana rezervuar olmasına rağmen, geviş getiren hayvanların da hepatit E virüsü

(HEV) enfeksiyonuna duyarlı oldukları gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada Lao Demokratik Halk Cumhuriyeti'nde, anti-HEV pozitifliğinin sığırlarda ve diğer geviş getiren hayvanlarda bulunduğu ve HEV IgG seroprevalansının kontrol grubuna göre çiftlik hayvanlarında daha yüksek olduğu, yaş ve yetiştirme süresinin uzunluğu ile önemli ölçüde arttığıda gösterilmiştir (111). Tavşanlarla temas da virüs enfeksiyonu kaynağı olarak kabul edilir. GENG ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (112), tavşan kasaplarında HEV IgG pozitiflik oranının Çin'deki yerel popülasyona göre dört kat daha yüksek olduğunu ve tavşan kasaplarında HEV IgM pozitiflik oranının da beş kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. Evcil hayvanlarla doğrudan temas bile, potansiyel bir hayvan aracılı HEV enfeksiyonu riski taşıyabilir. Bir ev tavşanında hepatit E virüsünün varlığı keşfedilmiştir (113). Ayrıca, enfekte hayvanlarla doğrudan temasın veya herhangi bir şekilde bakımlarının hepatit E virüsü ile enfeksiyon kaynağı olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyonun bir kişiden diğerine bulaşması ile ilgili olarak, hastanın kronik hepatitli başka bir hasta ile aynı odayı paylaştıktan sonra hepatit E virüsü ile enfekte olduğu tespit edildiğinden, Fransa'da bu bulaşmanın olası bir vakası bildirilmiştir (114).

2.8. HEPATİT E VİRÜSÜ ENFEKSİYONUNUN TEŞHİSİ

Diğer viral hepatit ajanlarının aksine, HEV enfeksiyonunun tanısı zordur çünkü klinisyenler arasında HEV bilgisi sınırlıdır. Ayrıca HEV tanısı için karaciğer enzimlerinin değerlendirilmesi nadiren düşünülmektedir. Aslında, hepatologlar arasında bile HEV enfeksiyonu gözden kaçabilir. Karaciğer hasarında Ulusal Sağlık Enstitüleri'nde bile HEV tanısı dikkate alınmamış ve birçok vakanın söz konusu uyuşturucuya bağlı olduğuna karar verilmiştir. Ilaca bağlı karaciğer hasarı olarak kabul edilen 318 vakadan yaklaşık 7'sinin (%2,2)bu hasarın akut HEV enfeksiyonuna bağlı olduğu bulunmuştur. Hepatit A virüsüne benzer şekilde, birçok HEV vakası da subkliniktir ve kolaylıkla elde edilebilmesine rağmen spesifik testler yapılmaz. Bununla birlikte, HEV testi rutin olarak mevcut değildir. FDA henüz HEV için herhangi bir teşhis testini onaylamadı. Ticari test ürünlerinin çoklu test karşılaştırma panelleri hem HEV immünoglobulin IgG hem de IgM antikorları için geniş varyasyon ortaya koymaktadır. HEV RNA pozitifliği, akut enfeksiyonda çok geçicidir ve bu nedenle çoğu klinik laboratuvarda elde edilmesi zordur. HEV RNA, dışkıda diğer virüs örneklerinden daha uzun süre bulunur; ancak dışkı testi zahmetli ve nadirdir. Bu nedenle, dışkı virüsü testi yalnızca hastalık salgınlarını hedefleyen epidemiyolojik çalışmalarda gerçekleştirilir. Rutin HEV tanı testlerinin olmaması, HEV enfeksiyonunun dünya çapında önemi ve yaygınlığının anlaşılmasını etkiler (4).

Ayrıca, HEV enfeksiyonunun ortaya çıkması için kullanılacak olan immünohistokimya, hepatit E'de meydana gelebilecek histolojik değişiklikler çok değişken olduğundan, günlük teşhis için önemli bir yardımcı test değildir. Bu nedenle, hepatit E'nin histopatolojik ayırıcı tanısını gerçekten zorlaştırıyor (115).

Bununla birlikte, doktorlar bazı semptomatik hastalar için akut HEV enfeksiyonunu değerlendirmekte ve test etmekte başarısız olabilirler ki bu genellikle diğer akut hepatit formlarından ayırt edilemez. Klinisyenlerin tanımadığı diğer HEV enfeksiyonları hem akut hem de kronik karaciğer hastalığı olan ve ilaca bağlı karaciğer hasarı şüphesi olan hastalardakileri içerir. Akut veya kronik hepatiti olan hastalarda HEV'in doğru tanımlanması ve teşhisi, HEV'in hasta yönetimi, hastalık kontrolü ve önlenmesi ve epidemiyolojisi için önemli çıkarımlara sahiptir (4).

Hayvanlara gelince, hepatit bulaşmış hayvanların çoğu enfeksiyon döneminde herhangi bir belirti göstermez, bu da hayvan bakıcıları için hastalıklarının teşhis edilmesini zorlaştırır ve bu enfekte hayvanlarla ilgilenerek veya onları tüketerek enfeksiyonun bulaşmasını kolaylaştırır (116).

2.9. HEV'İN ÖNLENMESİ

HEV’in yayılmasını önleme, ön tedavinin en önemli adımıdır. Bu nedenle, hepatit e virüs enfeksiyonunun yayılmasını önlemek için bulaşma yollarınının durdurulması gerekir. Bu noktadan hareketle iyi sanitasyonun hepatit E virüs enfeksiyonunun önlenmesinde en önemli etken olduğunu söyleyebiliriz. Çünkü bu yöntem yüksek oranda fekal-oral yol bulaşmasını önlemeye yardımcı olur. İnsan atığının uygun şekilde imha edilmesi gereklidir. Su kaynaklarının daha yüksek standartlara yükseltilmesi de gereklidir (117).

Ayrıca etin 71 °C'de (159,8 ° F) en az 20 dakika pişirilmesi hepatit E virüsünü öldürür ve sporadik enfeksiyonda, zoonotikten insana bulaşı engeller. Bunun yanı sıra enfeksiyonu önlemek için çiğ, kabuklu deniz ürünleri yemekten kaçınılmalıdır ve özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde enfeksiyon taşınabilirliği yüksektir (118).

Aynı şekilde kişisel hijyeni iyileştirmek, kan bankalarındaki tüm kan torbalarını test etmek gerekirken, virüsün kan ve organ yoluyla bulaşmasını önlemek için HEV antijenleri açısından bağışlanan organların test edilmesi da başka bir önlemdir. Öte yandan aşılama, HEV’in önlenmesinde önemli bir rol oynar. Ne yazık ki, HEV aşısının kullanımı sadece Çin'de uygulanmaktadır. Genel olarak, bulaşma yollarını anlayarak ve daha önce belirtildiği

gibi uygun önleme yöntemlerini uygulayarak enfeksiyonu sınırlayabilir ve enfeksiyon prevalansını azaltabiliriz.

2.10. GIDA VE HEPATIT E VIRÜSÜ

Karaciğer, hepatit E virüsünün çoğalması için ana organdır, bu nedenle karaciğerden yapılan herhangi bir ürün ve yiyeceğin tüketimi, gıda kaynaklı enfeksiyonların ana kaynağıdır. Buna ek olarak, hayvanlarda diğer organlarda hepatit E virüsünün RNA'sının varlığı keşfedildiği için, bu organlar bir virüs bulaşma kaynağı olarak düşünülebilir. Hepatit E ile enfekte hayvanlar üzerinde yapılan farklı çalışmalarda, virüsün kesimden sonra doğal olarak enfekte olmuş domuzların böbreklerinde, bağırsaklarında, iç organlarında, dalak dokusunda ve kalbinde mevcut olduğu bulunmuştur (57, 119-122). Almanya'da, hepatit E'nin IgG serum prevalansı et tüketicilerinde vejeteryanlara göre daha yüksektir, bu da et tüketiminin HEV enfeksiyonu için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (123). Benzer şekilde, virüs Almanya, Kanada ve Brezilya'deki (124-126) her iki perakende mağazasında da çiğ sosis, karaciğer sosisleri, domuz köftesi, çiğ domuz eti, pate ve kan sosisinde tespit edildi. İsviçre'de yenmeye hazır et ürünlerinde% 11.1, karaciğer sosislerinde% 18,9 ve çiğ et sosislerinde% 5,7 HEV prevalansına sahiptir (127). Domuz ürünleri tüketmeyen ve domuz yerine inek ve koyun tüketen ülkelerde, koyun, keçi ve inekler de virüsle enfekte olduğundan ve ürünleri hepatit enfeksiyonu kaynağı olarak kabul edildiğinden virüsten bahsetmek gerekmektedir.(128, 129). Hatta bu hayvanların sütünün virüs içerdiği tespit edilmiştir (130, 131). Virüsün varlığı hayvansal besinlerle sınırlı olmamakla birlikte deniz ürünlerinde ve bitkisel besinlerde de bulunabilir. İtalya'da kabuklu deniz hayvanlarının deniz suyunun kontaminasyonu nedeniyle virüsü içerdiği ve bu da kabuklu deniz hayvanlarının tüketimini bir enfeksiyon kaynağı haline getirdiği bulunmuştur (132). Aynı şekilde, sebze mahsulleri de başka bir enfeksiyon kaynağıdır çünkü virüs içeren sulama suyu veya atık su ile kontamine olurlar. Virüs ayrıca marul, ıspanak, biber ve hatta yemeye hazır sebzeler gibi sebzelerde yapılan çeşitli çalışmalarda da bulunmuştur (133, 134). Bu noktadan bakıldığında virüsün etkisiz hale getirilmesinde ve hepatit E'den gıda güvenliğinin sağlanmasında gıdaların > 65 °C sıcaklıkta 5 dakika ve <80 °C'de bir dakika yıkanması ve pişirilmesi açısından dikkatli olunmalıdır (135).

3. GEREKÇE VE AMAÇ

Hepatit E, önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya sağlık örgütü verilerine göre her yıl dünya çapında tahminen 20 milyon HEV enfeksiyonu yakalanırken bunların 3,3 milyonu semptomatik HEV enfeksiyonuna sahip olduğu tahmin edilmektedir ve HEV ile ilgili olarak yaklaşık olarak her yıl 44 bin ölüm meydana gelmektedir (136). Hindistan'da, hepatit E virüsü, akut hepatit vakalarının %50'sini temsil etmektedir ve Afrika'da 1988 ile 2013 arasında bildirilen 17 büyük salgına neden olmuştur. HEV'in büyük salgınları gelişmekte olan ülkelerle sınırlı olsa da gelişmiş ülkelerde artan sayıda vaka tanımlanmaktadır (137).

HEV, küçük, zarflamayan, tek sarmallı, pozitif bir RNA virüsüdür. *Orthohepevirus* cinsinin *Hepeviridae* ailesinin bir üyesidir (138). İlk dört genotipin insanları enfekte edenlerde daha yaygın olduğu bulunmuştur. Genotip 1 ve 2, gelişmekte olan ülkelerde akut ve endemik hepatit E enfeksiyonunun ana nedenidir. Bu genotipler, insanlar arasında fekal-oral yol ve kontamine su yoluyla bulaşan insan patojenlerinden sorumludur. Buna karşılık, gelişmiş ülkelerde, genotip 3 ve 4 daha yaygındır. Bu genotipler hayvan etinden enfekte gıda tüketimi, enfekte bir hayvanla doğrudan temas, organ nakli ve kan transfüzyonu yoluyla bulaşabilen zoonotik genotiplerdir (139, 140).

İnsanlarda en yaygın hepatit E virüsü enfeksiyonu yollarından biri fekal-oral ve enfekte hayvan ürünlerinin tüketimidir. HEV Genotip 1 ve 2 su salgınlarında önemli bir rol oynar. Ancak şu anda, gelişmiş ülkelerde suda hem genotip 3 hem de 4 tespit edilmiştir (141, 142). Öte yandan, zoonotik enfeksiyon, ağırlıklı olarak HEV genotip 3 ve 4'te meydana gelir. Hayvansal ürünlerin tüketimi, zoonotik enfeksiyonun ana yoludur. HEV, Cape Town'daki hayvansal ürünlerde keşfedildi ve aynı şehirde tespit edilen enfekte kişiler için de aynı genotipe sahipti, bu da gıda bulaşmasının gerçekliğini kanıtlıyordu (143). Ayrıca Japonya, Amerika Birleşik Devletleri, Almanya, Hollanda, Birleşik Krallık, İtalya, İspanya ve Çek Cumhuriyeti'ndeki yerel pazarlardan çeşitli hayvan ve hayvansal ürünlerin dokularında HEV RNA pozitifliği keşfedilmiştir (144). Ülkelerde virüsü çeşitli hayvanlarda, hayvansal ürünlerde ve suda tespit etmek ve HEV enfeksiyonunun potansiyel kaynağını bulmak için birçok çalışma yapılmıştır (75).

Hepatit E virüs enfeksiyonu, Türkiye'de önemli bir sağlık sorunudur. Görülme sıklığı yaklaşık %12'dir ve Türkiye'deki ikinci en yüksek hepatit prevalansını temsil etmektedir. Türkiye'de HEV salgınlarına ilişkin rapor olmamasına rağmen, araştırmalar HEV enfeksiyonu prevalansının arttığını göstermektedir (145). Araştırmalar ayrıca ciddi şekilde

etkilenen grubun tarım ve hayvan işçilerinin% 35'ine ulaştığını göstermektedir (146, 147). Ayrıca Türkiye'deki çiğ sütün %20'sinde hepatit E virüsünün farklı genotipleri tespit edilmiştir (148). Bu, Türkiye pazarında satılan et ve hayvansal ürünlerin olasılığının Türkiye'deki virüs enfeksiyonunun kaynağı olduğu konusunda araştırma yapılmasını gerektirmektedir. Bu açıdan bakıldığında, bu araştırma, Ankara'daki kasaplarında satılan karaciğerlerdeki RNA varlığını incelemeyi amaçlamaktadır.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1.1. MATERYAL

4.1.2. ÖRNEKLER

Bu araştırmada numuneler Ankara ili içerisindeki kasaplardan ve yerel mezbahalardan satın alınarak toplanmıştır. Örnekler canlı hayvanlardan veya insanlardan alınmadığı ve ürün olarak satın alındığı için etik kurul onayına gerek kalmadı. Örnekler, Ankara şehrinin farklı belediyelerinden rastgele toplandı. Haziran-Ekim 2020 arasında 43'ü ineklerden ve 22'si koyunlardan olmak üzere toplam 65 karaciğer örneği toplandı. 65 numuneden 36'sı kasaplardan ve 29'u yerel mezbahalardan alınmıştır. Her bir karaciğerden 5 gram alınarak steril numune kaplarına konuldu ve laboratuvara -4 °C'de nakledildi. Daha sonra numuneler küçük parçalara kesilerek işlendi ve bir sonraki aşamaya kadar -80 °C'de dolaplarda saklanmak üzere kriyotüplere konuldu. Tüm numunelere bulaşıcı maddeler olarak muamele edildi, laboratuvar biyogüvenlik önerilerine göre muamaele edildi ve biyogüvenlik seviyesi 2 ortamında çalışıldı. Şekil 5'te numune toplama sürecini görebiliriz.



Şekil 4.1. Numune toplama özeti

4.1.2. KIMYASALLAR

%99,5 etil alkol, Kimetsan Türkiye, N EL / 01 EP.

4.1.3. NUMUNE HAZIRLAMAK IÇIN ARAÇLAR

1. Forseps.

2. Kriyotüpler.

3. Numune kapları.

4. Cerrahi bıçak.

5. Plastik tabaklar.

6. Numune nakli için soğuk torba.

4.1.4. CİHAZLAR

Çalışmada kullanılan cihazlar ve marka, model aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1 Kullanılan cihazlar, markalar ve modeller

CİHAZLAR	MARKA ve MODEL
Laminar Kabin	clanLAF, CB 1204
Distile Su Cihazı	GFL, 2002
Hassas Terazi	Sartorius, BP 110S
Nanodrop 1000 Spektrofotometresi	ACTGene, ASP-2680
Thermal Cycler Pcr	GeneAmp PCR System 9700, Thermo Scientific
Santrifüj	Hettich Zentrifugen, Mikro 200R
Vorteks Cihazı	Thermo Scientific, LP Vortex Mixer
Real-Time PCR Cihazı	Roche Applied Science, Light cycler 480
Homojenizatör	Heidolph, DIAX 900

4.1.5. KITLER VE ENZIMLER

Kullanılan kit ve enzimlerin Markaları, üretim yerleri ve katalog numaralarını aşağıdaki gibidir.

1. High Pure RNA Tissue Kit Roche, Germany, 12033674001
2. Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit Roche, Germany, 04897030001
3. LightCycler® 480 Probes Master kit, Roche, Germany, 04707494001

4.1.6. PRIMERLER VE PROBLAR

Polimeraz zincir reaksiyonları için bu araştırmada kullanılan primerler ve problar ELLA Biotech (Ella Biotech GmbH, Almanya) tarafından sentezlendi. Üretici talimatlarına göre göre, problar ve primerler deiyonize su ile seyreltilerek 100 pikomol yoğunluğunda hazırlandı. Bu primerler ve problar kullanılarak gerçek zamanlı PZR gerçekleştirildi. Kullandığımız primerler ve problar *Jothikumar* ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Daha sonra Garcon ve arkadaşları tarafından modifiye edilmiştir. Primerlerin ve probların sekansları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. GAPDH, çalışmada internal kontrol olarak kullanılmıştır. Çizelge 4.3.'te kullanılan GAPDH primerleri ve probları gösterilmektedir.

Çizelge 4.2. HEV'nin primerleri ve probları (149)

	5’⟹3’ dizi	**Erime sıcaklığı (Tm)**
Primer İleri	GGTGGTTTCTGGGGTGAC	61 °C
Primer Geri	AGGGGTTGGTTGGATGAA	61 °C
TaqMan Prob	Fam-TGATTCTCAGCCCTTCGC-BHQ MGB modifiye	71 °C

Çizelge 4.3. GAPDH'in primerleri ve probları(150)

	5’ ➡3’ dizi
GAPDH Primer İleri	GGCGTGAACCACGAGAAGTATAA
GAPDH Primer Geri	CCCTCCACGATGCCAAAGT
GAPDH Prob	JOE- ACCCTCAAGATTG*TC*AGCAATGCCTCCT-Black hole quencher

4.1.7. HEV RNA STANDARTLARI

HEV RNA standart malzemesi 1. WHO Uluslararası Standardıdır (HEV referans malzeme kodu: PEI kodu 6329/10, sürüm 1.0, 7 Temmuz 2011) ve 125.000 IU / ml viral yüke sahiptir. Liyofilize standart, toplam 1 ml 1.25 x 10^{5} IU / ml olacak şekilde 1 ml deiyonize su ile seyreltildi ve stok olarak kullanıldı. Seyreltme faktörü 1:10 ile şu şekilde dört standart yapılmıştır (1.25 x 10^5 IU / ml, 1.25 x 10^4 IU / ml, 1.25 x 10^3 IU / ml ve 1.25 x 10^2 IU / ml). Daha sonra seyreltilmiş standartlar da kullanılana kadar -20 °C'de saklandı.

4.2.YÖNTEM

4.2.1. KARACİĞER ÖRNEKLERINDEN VIRAL RNA EKSTRAKSIYONU

Örneklerden RNA izolasyonu ROCHE KITS protokollerine göre aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

1. Karaciğer örnekleri rotor-stator homojenleştirici ile homojenize edildi, burada 25 mg donmuş örnek, homojenize edildikten sonra steril nükleaz içermeyen 1.5 ml mikrosantrifüj tüpü içerisine konularak üzerinde 400 µl Lizis / Bağlama Tamponuna eklendi.
2. lizat, bir mikrosantrifüjde 13000 g’de 2 dakika santrifüj edildi ve sonraki aşamalarda sadece toplanan süpernatan kullanıldı.
3. Lizat süpernatantına 200 µl saf etanol ilave edildi ve vorteks ile iyice karıştırıldı.
4. Yüksek saf filtre füpü, toplama tüpü ile birleştirildi, ardından üst rezervuardaki tüm örnek filtre tüpüne pipetlendi.

5. Birleşik tüpler standart bir mikrosantrifüjde maksimum hızda (13000 x g) 30 saniye santrifüj edildi.
6. Bundan sonra, filtre tüpü toplama tüpünden çıkarıldı ve akış sıvısı atıldı.
7. Filtre tüpü, kullanılan yeni toplama tüpü ile birleştirildi.
8. Her izolasyon için 90 µl DNase inkübasyon tamponu steril 1.5 ml reaksiyon tüpü içerisinde DNase1 çalışma solüsyonuna eklenmiş ve karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışım Filtre Tüpünün üst rezervuarına eklendi ve +15 ila + 25 °C'de 15 dakika inkübe edildi.
9. 500 µl Yıkama Tamponu 1, Filtre Tüpünün üst rezervuarına eklendi ve 8000 x g'de 15 saniye santrifüjlendi, ardından toplama tüpünden filtre tüpü çıkarıldı ve akış sıvısı atıldı. Daha sonra Filtre Tüpü, kullanılan toplama tüpü ile birleştirildi.
10. 500 µl yıkama tamponu 2 filtrenin üst haznesine eklendi. Tüp daha sonra 8000 x g'de 15 saniye santrifüjlendi ve akışı attı. Filtre tüpü, kullanılan toplama tüpü ile birleştirildi.
11. Filtrenin üst haznesine 300 µl yıkama tamponu 2 eklendi. Tüp en yüksek hızda 2 dakika santrifüjlendi (yaklaşık 13000 x g). Ekstra santrifüj süresi, kalan yıkama tamponunun örnekden çıkarılmasını sağlar. Daha sonra kolon, toplama tüpünden dikkatlice çıkarıldı, böylelikle kolon akış yoluyla temas etmeyecek. Çünkü bu etanolün taşınmasına neden olacaktır.
12. Filtre tüpü, nükleaz içermeyen steril 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Daha sonra filtre tüpünün üst rezervuarına 100 µl elüsyon tamponu eklendi ve tüp tertibatına 1 dakika süreyle 8000 x g'de santrifüj edildi.
13. Sonunda elüsyon tamponu eklenmiş RNA mikrosantrifüj tüpünde bulundu.
14. RNA, sonraki analizler için -80 ° C'de saklandı.

İzolasyon RNA'sını kontrol etmek için tüm numuneler nanodrops ile test edilmiştir.

4.2.2. cDNA'NIN SENTEZI

cDNA, "Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit" protokollerine göre izole edilmiş RNA'dan üretildi, cDNA 2 aşamada yapıldı:

1. RNA primer karışımının hazırlanması, 0.2 ml PZR tüpüne 10 µl ekstrakte edilmiş viral RNA, 2 µl random heksamer solüsyonu ve 1 µl H2O eklenerek yapılmıştır. Daha sonra nazikçe karıştırıldı ve santrifüjlendi. 65 °C'de 10 dakika inkübe edildiler. Daha sonra inkübasyondan sonra buz üzerinde tutuldular.

2. Transkripsiyon karışımının hazırlanması, 4 µl Transkript Reaksiyon Tamponu (5X), 2 µl dNTP karışımı (10mM), 0.5 µl RNAaz İnhibitörü (40U / µl) ve 0.5 µl Transkriptör Ters Transkriptaz (20U / µl) enzimi eklenerek hazırlandı. Daha sonra yavaşça karıştırıldı ve çökelmesi için kısa bir süre santrifüj edildi ve sonra 13 µl RNA-primer karışımı içeren tüpe 7 µl Transkripsiyon Karışımı eklendi ve termal döngü PZR cihazına kondu.
3. Termal döngüleyici PZR 'deki döngülerin sıcaklığı çizelge 4'teki gibi ayarlandı:

Çizelge 4.4. Termal döngüleyici PZR ayarları

Döngün sıcaklığı	**Döngü süresi**
25 ° C	10 dk
55 ° C	30 dk
85 ° C	5 dk

Son olarak cDNA'lar elde edildi ve bir sonraki adım için + 4 °C'de tutuldu.

4.2.3. GERÇEK ZAMANLI-PZR

Gerçek zamanlı PZR için daha önce aldığımız cDNA kullanıldı. Her reaksiyon için steril hacimde 0.2 ml'lik tüplerde PZR karışımı hazırlandı, bu karışım şunları içeriyordu:

HEV Primer İleri: 0,6 µL (0.3 pmol)

HEV Primer Geri: 0,6 µL (0.3 pmol)

HEV MGB Probu: 0,6 µL (0.3 pmol)

GAPDH Primer İleri: 0.6 µL (0.3 pmol)

GAPDH Primer Geri: 0,6 µL (0.3 pmol)

GAPDH Probu: 0,6 µL (0.3 pmol)

Probe Master: 10 µL

cDNA: 5 µL

Son hacim 20 µL olacak şekilde 1,4 µL deiyonize su eklendi.

Aşağıdaki protokole göre çalışan Roche Lightcycler 480 cihazı kullanılarak gerçekleştirildi:

1- Denatürasyon:

Sıcaklık: 95 ° C

Süre: 10 dakika

Döngü sayısı: 1 döngü

2- Kantifikasyon

Sıcaklık: 95 ° C, süre: 10 saniye

Sıcaklık: 60 ° C, süre: 30 saniye } Döngü sayısı: 45 döngü

Sıcaklık: 72 ° C, süre: 1 saniye

3- Erime:

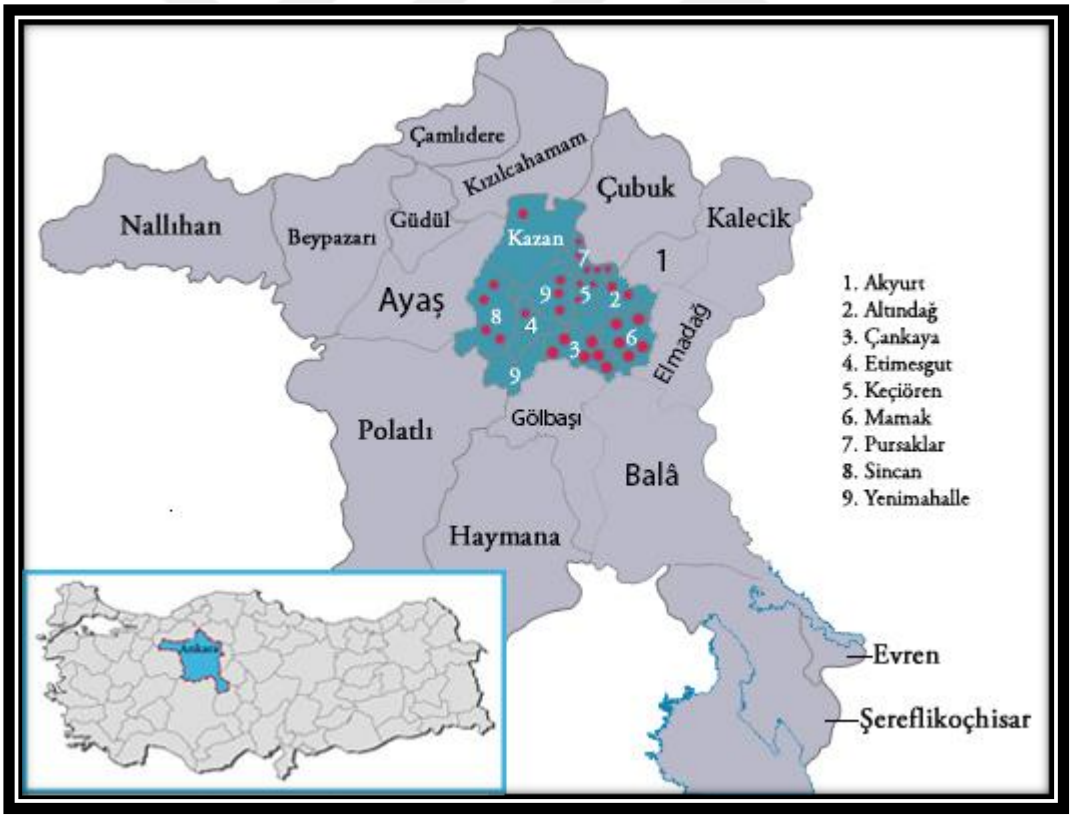
Sıcaklık: 40 ° C

Süre: 1 dakika

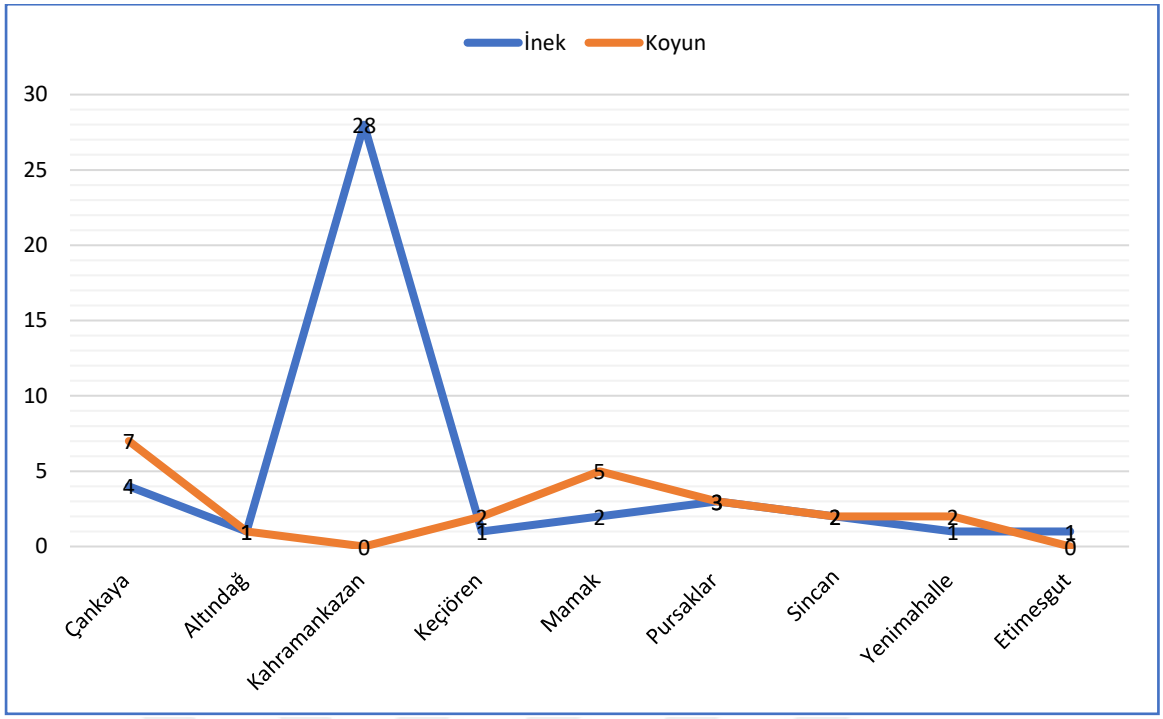
Döngü sayısı: 1 döngü

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada 1 Haziran- 17 Ekim 2020 tarihleri arasında Ankara ilinin farklı ilçelerindeki (Mamak, Çankaya, Keçören, Altındağ, Pursaklar, Yenimahalle, Etimesgut, Kahramankazan ve Sincan) yerel mezbahalar ve kasaplardan karaciğer örnekleri toplanmıştır. Şekil 5.1.'daki haritada yerel mezbahalar ve kasaplar gösterilmektedir. Ayrıca hayvan türleri ve Ankara belediyelerine göre karaciğer örnek sayıları şekil 5.2.'de gösterilmektedir. Başlangıçta, numunelerin tekrarlanmaması için kasaplardan sonra yerel mezbahalardan örnekler alındı. Tüm numuneler steril kaplarda toplandı, +4 ° C'de düşük soğutulmuş olarak laboratuara taşındı ve bulaşıcı materyal olarak işleme tabi tutuldu. Tüm örnekler yaklaşık 5 mg karaciğer dokusuydu, 43'ü ineklerden ve 22'si koyundan olmak üzere toplam 65 örnekdi. Tüm örnekler, örneklerin toplanması tamamlanana kadar -80 °C'de saklandı. Ardından RNA izolasyonu yapıldı ve cDNA sentezlendi ve tüm örnekler için gerçek zamanlı PZR (gerçek zamanlı polimeriz zincir reaksiyonu) yapıldı.



Şekil 5.1. Ankara belediyelerinde örnek toplama alanları



Şekil 5.2. Hayvan türlerine ve Ankara belediyelerine göre ciğer örnekleri sayıları

5.1.KOYUN KARACİĞER ÖRNEKLERİ

Çizelge 5.1.'den gördüğümüz gibi Ankara'nın farklı bölgelerindeki kasaplardan toplam 22 koyun karaciğer örneği toplandı. Koyun örneklerinin tamamı sadece kasaplardan alınmış ve mezbahalardan da alınmıştır. Belediyeye göre, örneklerin çoğunun Çankaya belediyesi (%32), ardından Mamak belediyesi (%23), Pursaklar Belediyesi (%14), Keçiören Belediyesi, Sincan Belediyesi ve Yenimahalle Belediyesi (%9), Altındağ Belediyesi (%5) dir. Bundan sonra gerçek zamanlı PZR analizleri, spesifik HEV genom primerleri kullanılarak gerçekleştirildi. Yapılan eş zamanlı PZR sonucunda tüm numunelerin negatif olduğu ve hiçbir numunede HEV RNA tespit edilmediği bulundu.

5.1.İNEK KARACIĞERI ÖRNEKLERI

Ankara'nın farklı bölgelerindeki mezbahalar ve kasaplardan yaklaşık 43 sığır karaciğer örneği toplandı. Çizelge 3'ten de görebileceğimiz gibi örnekler Kahraminkazan Belediyesi (%65), Çankaya Belediyesi (%9), Porsaklar Belediyesi (%7), Senkan Belediyesi (%5), Altındağ Belediyesi (%2), Keçiören belediyesinden (%2), Yenimahalle Belediyesi (%2) ve Etimesgut Belediyesindendir (%2). Kahramankazan Belediyesi'nden alınan numunelerin sadece mezbahalardan toplandı, diğer belediyelerden alınan numunelerin ise ilçelerdeki kasaplardan toplandı. RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve gerçek zamanlı PZR analizleri tüm örnekler için yapıldı ve sonuç hepsi için HEV RNA açısından negatifti (Table 5.2.).

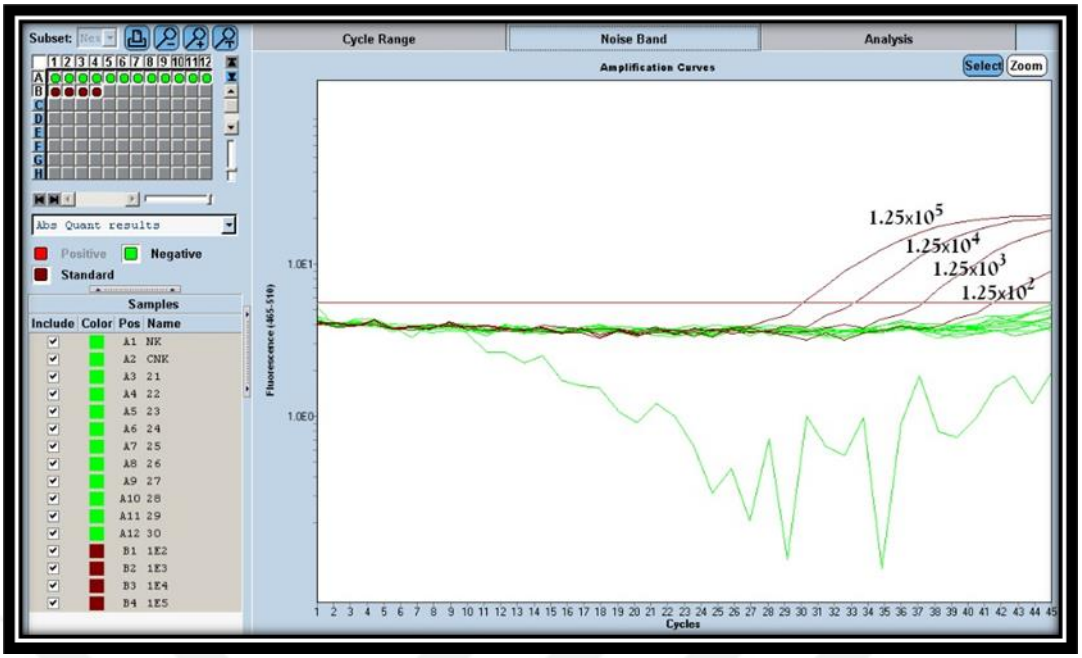
Çizelge 5.1. Koyun karaciğerlerindeki sonuçlar

Toplama Alanı	Belediyeler	Numuneler No.	%	PZR 'in Sonucu
Kasaplar	Altındağ Belediyesi	1	5%	Negatif
	Çankaya Belediyesi	7	32%	Negatif
	Keçiören Belediyesi	2	9%	Negatif
	Mamak Belediyesi	5	23%	Negatif
	Pursaklar Belediyesi	3	14%	Negatif
	Sincan Belediyesi	2	9%	Negatif
	Etimesgut Belediyesi	0	0%	Negatif
	Yenimahalle Belediyesi	2	9%	Negatif
Mezbahalar	Kahramankazan Belediyesi	0	0%	Negatif
Toplam	Ankara	22	100%	Negatif

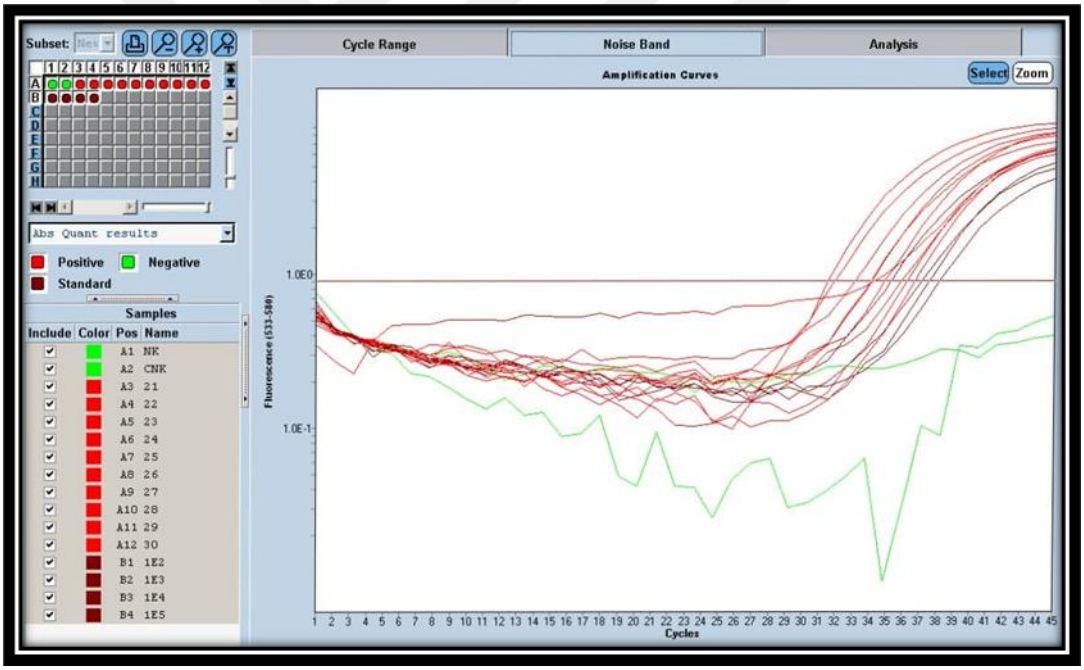
Çizelge 5.2. İnek karaciğerlerindeki sonuçlar

Toplama alanı	Belediyeler	Numuneler No.	%	PZR 'in sonucu
Kasaplar	Altındağ Belediyesi	1	2%	Negatif
	Çankaya Belediyesi	4	9%	Negatif
	Keçiören Belediyesi	1	2%	Negatif
	Mamak Belediyesi	2	5%	Negatif
	Pursaklar Belediyesi	3	7%	Negatif
	Sincan Belediyesi	2	5%	Negatif
	Etimesgut Belediyesi	1	2%	Negatif
	Yenimahalle Belediyesi	1	2%	Negatif
Mezbahalar	Kahramankazan Belediyesi	28	65%	Negatif
Toplam	ANKARA	43	100%	Negatif

GAPDH, PZR'da internal kontrol olarak kullanıldı. Tüm örneklerin GAPDH için pozitif olduğu bulundu. Numuneler GAPDH pozitif değilse tekrarlandı. Ayrıca, farklı viral yüklerle (1.25×10^5, 1.25×10^4, 1.25×10^3 ve 1.25×10^2) pozitif HEV standartları kullanıldı. Şekil 5.3. ve 5.4.'ta HEV ve GAPDH için bazı örneklerin sonuçları görülmektedir.



Şekil 5.3. Standartlarla gerçek zamanlı PZR'de bazı karaciğer örneklerinin sonuçları



Şekil 5.4. Gerçek zamanlı PZR'de numunelerin GAPDH sonuçları

6. TARTIŞMA

Hepatit E virüsü, karaciğerde akut viral inflamasyona neden olan RNA virüslerinden biridir ve dünyadaki en yaygın karaciğer enfeksiyonudur. Virüsün yılda yaklaşık 20 milyon vakayı enfekte ettiği tahmin edilmektedir Hepatit E enfeksiyonu çoğu durumda kendi kendini sınırlasa da esas olarak hamile kadınlar ve bağışıklığı baskılanmış hastalar arasında 44.000 HEV ile ilişkili ölüme yol açar (98, 151). Ayrıca, hepatit E'nin klinik belirtileri ve semptomları diğer hepatit virüslerinden ayırt edilemez. Hepatit E gelişmekte olan ülkelerde akut bir salgın olarak ve gelişmiş ülkelerde sporadik enfeksiyonlar olarak yayılır (2). Bu virüs, zoonotik bir virüs olarak kabul edilmesine rağmen insanları da enfekte ediyor. Hem insanların hem de hayvanların sağlığını tehdit ediyor.

Virüsün gıda yoluyla bulaşması, gelişmiş ülkelerde en yaygın bulaş şeklidir. Hayvansal ürünlerin tüketilmesi ve enfekte hayvanlarla temasın, insan enfeksiyonunun en önemli nedenleri arasında olduğu yer almaktadır (152, 153). Domuz, inek ve koyun gibi evcil hayvanlar veya geyik gibi vahşi hayvanlar, insanlar için en önemli hayvan zenginliği kaynaklarından biri olarak kabul edilir. Aynı zamanda bunlar HEV için en önemli rezervuarlardır. Virüs ile enfeksiyonu önlemek için, gerekli önlemleri almadan enfekte hayvan ürünlerini tüketmek, hepatit E virüsü ile insan enfeksiyonunun artmasına yardımcı olur. Gelişmekte olan ülkelerde, virüsün gıda yoluyla bulaşmasının yanı sıra su yoluyla bulaşması da yaygındır. Virüsün kontamine suyla insanlara ve hayvanlara bulaşması ve kontamine su tüketicileri arasında salgınlara neden olmaktadır (152).

Bu çalışmada, tüketilmek istenen hayvanların karaciğerlerinin hepatit E virüsü RNA içerip içermediğini ve Ankara'da enfeksiyonun kaynağı olup olamayacağını ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Kasaplardan ve mezbahalardan toplam 65 karaciğer örneği toplandı. Bunlar koyunlardan 22 örnek ve ineklerden 43 örnekdi. Virüs RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapıldı ve dahili kontrol GAPDH ve HEV pozitif standardı kullanılarak tüm örnekler için gerçek zamanlı PZR yapıldı. İnek veya koyun gibi hayvan karaciğeri türünün farklılığına bakılmaksızın, bu örneklerde hepatit E virüsünün RNA'sının tanımlanmadığı bulunmuştur. Bu, farklı olası yollarla açıklanabilir. İlk olarak, bu sonuçlar, numune toplama süresi boyunca kesimden önce hayvanların sağlıklı olduklarını gösterir. Veya hayvanlar, enfekte olduktan sonra hepatit E virüsü enfeksiyonundan kurtarılabilir, böylece RNA hayvanın karaciğerinden kaybolur. Bilindiği gibi virüsün RNA'sının enfeksiyondan bir ila iki ay sonra saptanabilir olması olumsuz sonucu açıklamaktadır. Ayrıca sonuçları açıklayabilecek bir

başka olasılık da 1.25 x 10^2 IU / ml Saptama Sınırı (LOD) değerine sahip olan çalışmamızda testin duyarlılığıdır. Karaciğer örneklerindeki RNA miktarının (LOD) standart değerinden daha az olduğu ve böylece negatif görünebilmiştir. Tüm bunlar bize karaciğerlerin HEV enfeksiyonu kaynağı olmayabileceğini düşündürmektedir.

Bu araştırmada elde edilen sonuçlar kasaplarda satılan karaciğerin hepatit E virüsü enfeksiyonu riskini temsil etmeyebileceğini gösterse de son on yılda hepatit E virüsü üzerine yapılan araştırmalar Türkiye'de HEV Hepatit E virüsüne karşı IgG prevalansında yüksek bir artış olduğunu göstermektedir. Türkiye'nin çeşitli illerinde kan bağışçıları üzerinde iki farklı ELISA tekniği kullanılarak yapılan araştırmada ise Wantai grubunu kullanan donörler arasında hepatit E virüsü seroprevalansında%12,08'e varan artış görülmüştür. Ankara ilinde HEV seroprevalansının 2013-2016 yılları arasında%4,4'ten %12'ye yükseldiği tespit edilmiştir (154, 155). Malatya ve Kahramanmaraş'ta da yaygınlık oranlarının%15,5 gibi yüksek olduğu görüldü. Bu, Türkiye'de HEV'nin artan şekilde yayılmasının nedeninin başka kaynaklarının varlığına işaret etmektedir.

Ayrıca, Türkiye'de son zamanlarda yapılan araştırmalarda, çiğ yaş ve az pişmiş et yemenin yüksek riskli hastalarda hepatit E virüsü enfeksiyonu için bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Yüksek riskli hastalarda HEV seroprevalansı yüksek (% 9.9), ancak virüs oranı düşük (% 0.6) idi (156). Bu bizim sonuçlarımızla uyuşmasa da karaciğer dışında et veya diğer hayvansal ürünler gibi kaynakların varlığı enfeksiyon nedeni olabilir. Ayrıca Türkiye'nin doğusunda ve güneyinde yapılan bir başka çalışmada da sığır ve koyunlarda virüse karşı antikor prevalansı sırasıyla% 3,8 ve % 2,6 olarak bulunmuş ancak virüs karaciğerde tanımlanmamıştır (157). Bu sonuçlar, bizim karaciğer örneklerinde bulduklarımıza benzerdir. Hayvanlarda hepatit enfeksiyonu oranının yüksek olmasına reğmen, virüsün RNA'sının karaciğer dokusunda tespit edilememiştir ve bunun nedeni karaciğer dokusunda RNA varlığının belirlenmesindeki zorluk olabilir. Ayrıca enfeksiyon dönemi sırasında HEV RNA görünümlerinin penceresi küçük olduğundanda kaynaklanmaktadır (158).

Demirci ve ark. yaptıkları çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinde farklı hayvanların sütündeki virüs oranının yüksek olduğu tespit etmişlerdir. (Inek sütünde %29,16, keçi sütünde%18,46 ve koyun sütünde%12,3). Ve sütteki HEV genotipinin birinci, üçüncü ve dördüncü tür olduğu bulunmuştur, bu da bize HEV enfeksiyonunun hayvanlarda gıda kaynaklı ve su kaynaklı olduğunu gösterir. Bu araştırma, sütün tehlikeli bir hepatit

enfeksiyonu kaynağı olduğunu göstermiştir ve bu, hayvanların karaciğerlerinden başka bir gıda kaynağının enfeksiyon kaynağı olduğu fikriyle tutarlıdır(159) .Bu da bizi Türkiye'de hayvan kaynağı olarak süt ve hayvan ciğeri dışında başka enfeksiyon kaynakları aramayı düşündürmüştür.

Öte yandan, son yıllarda Türkiye'de hepatit E virüsü salgınlarının varlığına dair herhangi bir tıbbi rapor bulunmamaktadır. Bu da Türkiye'nin endemik ülkelerden biri olarak kabul edilmesine rağmen, suyun Türkiye'de enfeksiyon kaynağı olmadığını gösterebilir. Ancak hayvanların sütlerinde ilk genotipin tespiti, su salgınları yerine sudaki virüsün Sporadik enfeksiyon olduğunu gösterme şansı yaratmaktadır. Ek olarak, arıtılmamış atık su kullanımının çiftlik işçilerinde başka bir HEV enfeksiyon kaynağı olarak kabul edilebileceği, çünkü kandaki anti HEV prevalansının çalışanlar arasında (% 34,8) kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edildi (160). Bu, virüsün Türk nüfusundaki artışının bir başka kaynağı olabilir.

Diğer ülkelerle karşılaştırıldığında, Çin'de yapılan araştırmalar farklı bölgelerde farklı sonuçlar göstermiştir. Çin'in Xinjiang şehrinde, kesim sonrası koyunlar ve aynı kesimhanede çalışan kasaplar üzerinde yapılan bir çalışmada, HEV'in serolojik prevalansının koyunlar için %35,2 (176/500) ve kasaplar için %57,7 (15/26) olduğu bulundu. Koyun karaciğerlerinin 4 / 75'i (%5,3) HEV RNA içeriyordu (93). Benzer şekilde, Yunnan ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, Çin'deki, HEV enfeksiyonu testi için dışkı, kan, doku ve keçi sütü toplandı (161). Şaşırtıcı bir şekilde, yüksek HEV RNA prevalansı dışkı örneklerinde %74.07 (40/54) ve keçi serumunda %53,57 (15/28) pozitif bulundu. Ayrıca enfekte keçilerin süt örnekleri de HEV pozitifti. Hepatit E virüsü ile enfekte keçilerin karaciğer ve dalak dokularında da HEV antijenleri sıklıkla gözlenmiştir. Bu, karaciğer ve dalak tüketiminden kaynaklanan HEV enfeksiyonu geliştirme riskini açıkça göstermiştir. Ayrıca Song ve ark., Çin'in Taian Bölgesi'nde keçilerin gıda yoluyla insanlarda hepatit E virüsü enfeksiyonunun başlıca kaynağı olabileceğini gösterdi (162). Kesim sonrası mezbahalardan 120 kan örneğini ve 50 keçi karaciğeri örneğini incelediler ve 50 keçi serumu örneğindeki (%46,7) HEV IgG'sinin pozitif ve iki karaciğer örneğinde (%4) RNA'nın pozitif olduğunu buldular. Bu önceki çalışmalardan, koyun karaciğerinin daha önce bahsedilen Çin bölgelerinde gıda kaynaklı hepatit E virüsü enfeksiyonu kaynağı olabileceği de açıktır. Bu araştırmalar, Türkiye'nin Ankara şehrinde yaptığımız çalışmamızda bulduklarımızla çelişmektedir. Öte yandan, Çin'in Hebei Eyaletinde ineklerin ve ürünlerinin hepatit E virüsü için bir enfeksiyon kaynağı olmadığı tespit edildi. Geng ve diğerleri, inek, domuz ve

tavşanlardan alınan örneklerde hepatit E virüsünü inceledi ve domuzlarda ve tavşanlarda RNA virüsü bulunurken ineklerin ve süt ürünlerinin virüs içermediğini buldular. HEV RNA prevalansı domuzlarda%9,3 ve tavşanlarda%18,9 idi (163). Bu, sonuçların bölgelere, örneklere veya çevresel faktörlere bağlı olarak aynı ülke içinde farklılık gösterebileceği görüşünü güçlendirir. Bu da Türkiye'deki önceki çalışmalardaki sonuçları ve bizim sonuçlarımızı açıklamaktadır.

Avrupa'da, popülasyondaki enfeksiyon oranının yüksek olmasına rağmen, ineklerde hepatit E virüsünün serolojik enfeksiyon oranı Flamanca, Belçika'da%0 idi (164), bu da ineklerin gıda yoluyla HEV enfeksiyonunun kaynağı olmayabileceğini göstermektedir. Bu araştırma sonuçları bizim çalışmamıza benzemektedir. İtalya'da bazı geviş getiren hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, en yüksek seroprevalans oranının keçiler (%1,4) ve koyunlar (%21,6) arasında olduğu tespit edilirken, koyunların %3'ünde HEV RNA'nın sadece hangi genotipte olduğu tespit edildi. RNA miktarı çok düşük olduğu için belirlenemedi. Bu sonuçtan, HEV ile enfekte olmuş hayvanların enfeksiyonun son safhasında oldukları, dolayısıyla RNA miktarının düşük olduğu açıktır (165). Bu çalışmadan, enfeksiyonun son aşamasındaki RNA'nın kolayca tespit edilemeyecek ve bulunamayabilecek olduğu sonucunu çıkarabiliriz. Ayrıca bu, hayvanın iyileşme aşamasında olduğu ve virüs miktarının çok az veya hiç olmadığı yönünden ulaştığımız açıklama ile benzer bir durum olabilir.

Mısır'da koyun sütü ve karaciğeri üzerinde yapılan bir çalışmada (166), koyun sütündeki HEV IgG prevalansının %7,1 olduğu ve virüsün iki pozitif süt örneğinden izole edildiği bulunmuştur. Benzer şekilde, virüs enfekte hayvanlardan alınan iki karaciğer dokusu örneğinde bulundu ve enfekte keçilerin sahip olduğu hanelerde HEV seroprevalansının, ürünlerinin yüksek tüketimi nedeniyle%80 olduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, araştırmamızda bulduklarımıza benzemese de virüsün hayvanlarda ve ürünlerindeki varlığı ile insanlara gıda ve hayvanlarla doğrudan temas yoluyla bulaşması arasındaki yakın ilişkiyi göstermektedir.

Sığır ve koyunlar Türkiye'deki en büyük hayvan kaynakları olduğu için, virüsün varlığını bu hayvanlar üzerinde araştırmak daha mantıklıydı. Kore ve Avrupa ülkelerinde olduğu gibi, ineklerin ve koyunların yanındaki domuzlar, temel hayvancılığın yanı sıra hepatit E ile bir enfeksiyon kaynağını temsil eder, bu nedenle HEV'nin varlığının araştırılması domuzlarda mantıklıdır. Kore'de yapılan bir çalışmada HEV RNA prevalansı hem domuzlarda hem de ineklerde karşılaştırılmış ve ineklerde% 1 olduğu ve virüsün domuz karaciğerlerinde

ineklere göre üç kat daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir (167). Bu bizim çalışmamızda bulduklarımızla çelişiyor. Ayrıca, Fransa'da domuzlar üzerinde yapılan çalışmada, çiğ domuz ciğeri ürünlerinin insanlar için bir tehlike kaynağı oluşturduğu doğrulanmıştır. Virüsün domuz karaciğerindeki prevalansı %2,8'e ulaşmış ama aynı zamanda, virüsün içinde bulunmadığı domuz kaslarının tüketilmesiyle insanların hepatit E virüsüne yakalanma riskinin sınırlı olduğunu gösterdi. Bu, karaciğerle ilgili bulduklarımıza karşı ve etle ilgili olarak da aynı fikirdedir (168).

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hepatit E virüsü, karaciğerde akut viral inflamasyona neden olan bir RNA virüsüdür ve dünyadaki en yaygın karaciğer enfeksiyonu türüdür. Yılda yaklaşık 20 milyon vakaya bulaşır ve kırk dört bin kişinin ölümüne neden olur. Hepatit E enfeksiyonu çoğu durumda kendi kendini sınırlar, ancak esas olarak hamile kadınlar ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar arasında ölümle sonuçlanabilen ciddi bir enfeksiyona neden olur. Bu virüsün tehlikesi, klinik belirtilerin ve semptomların diğer hepatit virüslerinden ayırt edilemez olmasından kaynaklanmaktadır. Hepatit E, gelişmekte olan ülkelerde akut salgın şeklinde ortaya çıkar ve kontamine suyla insanlara ve hayvanlara bulaşır ve kontamine su tüketicileri arasında hastalığın salgınlarına neden olur. Genetik tip I ve II, su iletimi ile ilişkilidir ve gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır. Öte yandan gelişmiş ülkelerde virüs sporadik enfeksiyon şeklinde yayılır ve gıda yoluyla bulaşmaktadır çünkü hayvansal ürünlerin tüketimi ve enfekte hayvanlarla temas, hepatit E virüsü ile insan enfeksiyonunun en önemli nedenleri arasında yer almaktadır. HEV için rezervuar oldukları bilinen en önemli hayvanlar arasında domuzlar, inekler, koyunlar ve bunların et veya süt ürünleri tüketimi, virüsle enfeksiyon kaynağı olan geyik gibi bazı evcil veya yabani hayvanlardır. İyi pişirmek gibi virüsle enfeksiyonu önlemek için gerekli önlemlerin alınmaması, enfekte hayvansal ürünler tüketildiğinde hepatit E virüsü ile insan enfeksiyonunun artmasına yardımcı olur.

Son zamanlarda Türkiye'de HEV seroprevalans oranında artış gözlendi, %12'ye ulaşmıştır. Özellikle Ankara şehrinde virüsün salgınlarda sudan yayıldığına dair hiçbir rapor yoktu ve bu da bizi yayılmasını sağlayan bir neden aramaya götürdü. Bu çalışmada amacımız, Ankara ilinde tüketilmek üzere satılan hayvanların karaciğerlerinin hepatit E virüs RNA'sı içerip içermediğini ve bunun Ankara'da enfeksiyonun kaynağı olup olmadığını ortaya çıkarmaktır. Kasaplardan ve mezbahalardan toplam 65 karaciğer örneği toplanmıştır (22 koyun örneği ve 43 inek örneği). Daha sonra viral RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapıldı ve GAPDH dahili kontrolü ve HEV pozitif standardı kullanılarak tüm numuneler için gerçek zamanlı PZR yapıldı. Bu örneklerde hepatit E virüsü RNA'sının bulunmadığı görüldü. Bu sonuçlar, örnek toplama döneminde yani kesimden önce hayvanların sağlıklarının iyi olması veya kesim işleminden çok önce hepatit E virüsü ile enfeksiyondan kurtulan hayvanların RNA'nın hayvanın karaciğerinden kaybolmasına neden olmasıyla açıklanabilir. Veya RNA miktarı, tekrar gerçek zamanlı PZR reaksiyonu için kullanılan 1.25×10^2 IU / ml saptama sınırından azdı. Bu sonuçlarla Ankara'da örnek toplama sürecinde koyun ve sığır karaciğerlerinin hepatit E virüsü ile enfeksiyon kaynağı olmadığını söyleyebiliriz.

Elde ettiğimiz sonuçlar, toplanan örneklerde virüsün varlığının bulunmadığını gösterse de bu sonuçlar piyasalarda satılan tüm karaciğer örneklerinin virüsten arınmış olduğunu kanıtlamaz. Bu araştırmaya dahil edilen örnek grubu küçük olduğundan ve karaciğerlerin sağlıklı hayvanlardan olduğunu veya hepatitten iyileştiğini gösteriyor. Ancak son zamanlarda Türkiye'de hepatit E enfeksiyonunun olası kaynaklarının araştırılması çalışmalarında, virüsün RNA'sının inek ve keçi gibi hayvanların sütlerinde ve ineklerin kanında bulunurken, karaciğerde bulunmaması ile ilgili çalışmalar birbiri ile karşılaştırıldığında, durum bizi virüsün Türkiye'deki serolojik oranındaki artışla ilgili başka kaynaklar aramaya yönlendirmektedir. Bu durum aynı zamanda, daha çok sayıda örneklemde ve Türkiye'nin daha kapsamlı alanlarında yoğun araştırma yapılmasını önermemize neden oluyor. Ve ayrıca virüsü Türkiye'de bulaştırmak için diğer olası kaynakları araştırmak gerekliliğini bize gösteriyor. Virüs ile enfeksiyonu önlemek için, enfeksiyonun gıda yoluyla insanlara bulaşmasını önlemek için gıda için tüketilen hayvanların sağlığına dikkat edilmesini ve bulaşmayı önlemek için gıdaların iyi pişirilmesinin önemi konusunda farkındalığın yaygınlaştırılmasını öneriyoruz. Son olarak, bu virüsün ihmal edilmesi ışığında, Türkiye'de hepatit E virüsü ve enfeksiyon kaynakları için önleyici tedbirlerin alınması ve araştırmalarının yoğunlaştırılmasına ciddi bir ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Khuroo MS. Study of an epidemic of non-A, non-B hepatitis: possibility of another human hepatitis virus distinct from post-transfusion non-A, non-B type. The American journal of medicine. 1980;68(6):818-24.

2. Kamar N, Izopet J, Pavio N, Aggarwal R, Labrique A, Wedemeyer H, et al. Hepatitis E virus infection. Nature reviews Disease primers. 2017;3(1):1-16.

3. Jefferies M, Rauff B, Rashid H, Lam T, Rafiq S. Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. World J Clin Cases. 2018;6(13):589-99. Epub 2018/11/16. doi: 10.12998/wjcc.v6.i13.589. PubMed PMID: 30430114; PubMed Central PMCID: PMCPMC6232563.

4. Murrison LB, Sherman KE. The Enigma of Hepatitis E Virus. Gastroenterol Hepatol (N Y). 2017;13(8):484-91. Epub 2017/09/05. PubMed PMID: 28867980; PubMed Central PMCID: PMCPMC5572962.

5. Teshale EH, Hu DJ. Hepatitis E: Epidemiology and prevention. World J Hepatol. 2011;3(12):285-91. Epub 2012/01/05. doi: 10.4254/wjh.v3.i12.285. PubMed PMID: 22216368; PubMed Central PMCID: PMCPMC3246546.

6. Wu C, Wu X, Xia J. Hepatitis E virus infection during pregnancy. Virology Journal. 2020;17(1):73. doi: 10.1186/s12985-020-01343-9.

7. Chaudhry SA, Verma N, Koren G. Hepatitis E infection during pregnancy. Can Fam Physician. 2015;61(7):607-8. Epub 2015/07/16. PubMed PMID: 26175368; PubMed Central PMCID: PMCPMC4501603.

8. Leblebicioglu H, Ozaras R. Hepatitis E virus infection in Turkey: a systematic review. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2018;17(1):17.

9. Lemon SM, Walker CM. Enterically Transmitted Non-A, Non-B Hepatitis and the Discovery of Hepatitis E Virus. Cold Spring Harb Perspect Med. 2019;9(8). Epub 2018/05/08. doi: 10.1101/cshperspect.a033449. PubMed PMID: 29735576; PubMed Central PMCID: PMCPMC6531376.

10. Dennis JM, Wolman A. 1955-56 Infectious Hepatitis Epidemic in Delhi, India [with Discussion]. Journal (American Water Works Association). 1959;51(10):1288-98.

11. Feinstone SM. History of the Discovery of Hepatitis A Virus. Cold Spring Harb Perspect Med. 2019;9(5). Epub 2018/05/02. doi: 10.1101/cshperspect.a031740. PubMed PMID: 29712682; PubMed Central PMCID: PMCPMC6496330.

12. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, Ketiladze ES, Braginsky DM, Savinov AP, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. Intervirology. 1983;20(1):23-31. Epub 1983/01/01. doi: 10.1159/000149370. PubMed PMID: 6409836.

13. Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, Chawla YK, Kaur U, Ganguly NK. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. Lancet. 1993;341(8838):149-50. Epub 1993/01/16. doi: 10.1016/0140-6736(93)90008-5. PubMed PMID: 8093748.

14. Purdy MA, Khudyakov YE. Evolutionary history and population dynamics of hepatitis E virus. PloS one. 2010;5(12):e14376.

15. Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk KC, Young LM, Fry KE, et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. Science. 1990;247(4948):1335-9. Epub 1990/03/16. doi: 10.1126/science.2107574. PubMed PMID: 2107574.

16. Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus. Reviews in medical virology. 2003;13(3):145-54.

17. Kenney SP, Meng X-J. Hepatitis E virus genome structure and replication strategy. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2018:a031724.

18. Kenney SP, Meng XJ. Hepatitis E Virus Genome Structure and Replication Strategy. Cold Spring Harb Perspect Med. 2019;9(1). Epub 2018/03/14. doi: 10.1101/cshperspect.a031724. PubMed PMID: 29530948; PubMed Central PMCID: PMCPMC6314074.

19. Xing L, Li T-C, Mayazaki N, Simon MN, Wall JS, Moore M, et al. Structure of hepatitis E virion-sized particle reveals an RNA-dependent viral assembly pathway. Journal of Biological Chemistry. 2010;285(43):33175-83.

20. Shrestha MP, Scott RM, Joshi DM, Mammen Jr MP, Thapa GB, Thapa N, et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. New England Journal of Medicine. 2007;356(9):895-903.

21. Yin X, Ambardekar C, Lu Y, Feng Z. Distinct entry mechanisms for nonenveloped and quasi-enveloped hepatitis E viruses. Journal of virology. 2016;90(8):4232-42.

22. Nagashima S, Takahashi M, Kobayashi T, Nishizawa T, Nishiyama T, Primadharsini PP, et al. Characterization of the quasi-enveloped hepatitis E virus particles released by the cellular exosomal pathway. Journal of virology. 2017;91(22).

23. Kenney SP, Meng X-J. Hepatitis E virus genome structure and replication strategy. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2019;9(1):a031724.

24. Yin X, Feng Z. Hepatitis E virus entry. Viruses. 2019;11(10):883.

25. Sun P, Lin S, He S, Zhou E-M, Zhao Q. Avian Hepatitis E Virus: With the Trend of Genotypes and Host Expansion. Frontiers in Microbiology. 2019;10(1696). doi: 10.3389/fmicb.2019.01696.

26. Purdy MA, Khudyakov YE. The molecular epidemiology of hepatitis E virus infection. Virus research. 2011;161(1):31-9.

27. Meng X-J. From barnyard to food table: the omnipresence of hepatitis E virus and risk for zoonotic infection and food safety. Virus research. 2011;161(1):23-30.

28. Meng X. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. Veterinary microbiology. 2010;140(3-4):256-65.

29. Khuroo MS, Khuroo MS, Khuroo NS. Hepatitis E: discovery, global impact, control and cure. World journal of gastroenterology. 2016;22(31):7030.

30. Sridhar S, Teng JL, Chiu T-H, Lau SK, Woo PC. Hepatitis E virus genotypes and evolution: emergence of camel hepatitis E variants. International Journal of Molecular Sciences. 2017;18(4):869.

31. Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Origin and dispersal of hepatitis E virus. Emerging microbes & infections. 2018;7(1):1-13.

32. Rasheeda CA, Navaneethan U, Jayanthi V. Liver disease in pregnancy and its influence on maternal and fetal mortality: a prospective study from Chennai, Southern India. European journal of gastroenterology & hepatology. 2008;20(4):362-4.

33. Gouilly J, Chen Q, Siewiera J, Cartron G, Levy C, Dubois M, et al. Genotype specific pathogenicity of hepatitis E virus at the human maternal-fetal interface. Nature communications. 2018;9(1):1-13.

34. Gupta N, Sarangi AN, Dadhich S, Dixit VK, Chetri K, Goel A, et al. Acute hepatitis E in India appears to be caused exclusively by genotype 1 hepatitis E virus. Indian Journal of Gastroenterology. 2018;37(1):44-9. doi: 10.1007/s12664-018-0819-z.

35. Jaiswal SP, Jain AK, Naik G, Soni N, Chitnis DS. Viral hepatitis during pregnancy. Int J Gynaecol Obstet. 2001;72(2):103-8. Epub 2001/02/13. doi: 10.1016/s0020-7292(00)00264-2. PubMed PMID: 11166742.

36. Blackard JT, Rouster SD, Nady S, Galal G, Marzuuk N, Rafaat MM, et al. Genotypic characterization of symptomatic hepatitis E virus (HEV) infections in Egypt. Journal of Clinical Virology. 2009;46(2):140-4. doi: https://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.07.007.

37. Stoszek SK, Abdel-Hamid M, Saleh DaA, Kafrawy SE, Narooz S, Hawash Y, et al. High prevalence of hepatitis E antibodies in pregnant Egyptian women. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2006;100(2):95-101.

38. Abravanel F, Dimeglio C, Castanier M, Péron J-M, Kamar N, Lhomme S, et al. Does HEV-3 subtype play a role in the severity of acute hepatitis E? Liver International. 2020;40(2):333-7. doi: 10.1111/liv.14329.

39. Hoofnagle JH, Nelson KE, Purcell RH. Hepatitis e. New England Journal of Medicine. 2012;367(13):1237-44.

40. Williams TPE, Kasorndorkbua C, Halbur P, Haqshenas G, Guenette D, Toth T, et al. Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a swine model. Journal of clinical microbiology. 2001;39(9):3040-6.

41. Himmelsbach K, Bender D, Hildt E. Life cycle and morphogenesis of the hepatitis E virus. Emerging microbes & infections. 2018;7(1):196.

42. McMahon HT, Boucrot E. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2011;12(8):517-33. doi: 10.1038/nrm3151.

43. He S, Miao J, Zheng Z, Wu T, Xie M, Tang M, et al. Putative receptor-binding sites of hepatitis E virus. Journal of General Virology. 2008;89(1):245-9.

44. Holla P, Ahmad I, Ahmed Z, Jameel S. Hepatitis E Virus Enters Liver Cells Through a Dynamin-2, Clathrin and Membrane Cholesterol-Dependent Pathway. Traffic. 2015;16(4):398-416.

45. Zhang L, Tian Y, Wen Z, Zhang F, Qi Y, Huang W, et al. Asialoglycoprotein receptor facilitates infection of PLC/PRF/5 cells by HEV through interaction with ORF2. Journal of medical virology. 2016;88(12):2186-95.

46. Mahilkar S, Paingankar MS, Lole KS. Hepatitis E virus RNA-dependent RNA polymerase: RNA template specificities, recruitment and synthesis. Journal of General Virology. 2016;97(9):2231-42.

47. Todt D, Walter S, Brown RJ, Steinmann E. Mutagenic effects of ribavirin on hepatitis E virus—viral extinction versus selection of fitness-enhancing mutations. Viruses. 2016;8(10):283.

48. Haldipur B, Bhukya PL, Arankalle V, Lole K. Positive regulation of hepatitis E virus replication by microRNA-122. Journal of virology. 2018;92(11):e01999-17.

49. Emerson SU, Nguyen H, Torian U, Purcell RH. ORF3 protein of hepatitis E virus is not required for replication, virion assembly, or infection of hepatoma cells in vitro. Journal of virology. 2006;80(21):10457-64.

50. Ding Q, Heller B, Capuccino JM, Song B, Nimgaonkar I, Hrebikova G, et al. Hepatitis E virus ORF3 is a functional ion channel required for release of infectious particles. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2017;114(5):1147-52.

51. Kenney SP, Pudupakam R, Huang Y-W, Pierson FW, LeRoith T, Meng X-J. The PSAP motif within the ORF3 protein of an avian strain of the hepatitis E virus is not critical for viral infectivity in vivo but plays a role in virus release. Journal of virology. 2012;86(10):5637-46.

52. Spahr C, Knauf-Witzens T, Vahlenkamp T, Ulrich R, Johne R. Hepatitis E virus and related viruses in wild, domestic and zoo animals: A review. Zoonoses and public health. 2018;65(1):11-29.

53. Doceul V, Bagdassarian E, Demange A, Pavio N. Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. Viruses. 2016;8(10). Epub 2016/10/06. doi: 10.3390/v8100270. PubMed PMID: 27706110; PubMed Central PMCID: PMCPMC5086606.

54. Jori F, Laval M, Maestrini O, Casabianca F, Charrier F, Pavio N. Assessment of Domestic Pigs, Wild Boars and Feral Hybrid Pigs as Reservoirs of Hepatitis E Virus in Corsica, France. Viruses. 2016;8(8):236. PubMed PMID: doi:10.3390/v8080236.

55. Salines M, Andraud M, Rose N. Combining network analysis with epidemiological data to inform risk-based surveillance: Application to hepatitis E virus (HEV) in pigs. Preventive Veterinary Medicine. 2018;149:125-31. doi: https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.11.015.

56. Lopez-Lopez P, Risalde MdlA, Frias M, García-Bocanegra I, Brieva T, Caballero-Gomez J, et al. Risk factors associated with hepatitis E virus in pigs from different production systems. Veterinary Microbiology. 2018;224:88-92. doi: https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.08.020.

57. Krog JS, Larsen LE, Breum SØ. Tracing Hepatitis E Virus in Pigs From Birth to Slaughter. Frontiers in Veterinary Science. 2019;6(50). doi: 10.3389/fvets.2019.00050.

58. Weger S, Elkin B, Lindsay R, Bollinger T, Crichton V, Andonov A. Hepatitis E Virus Seroprevalence in Free-Ranging Deer in Canada. Transboundary and Emerging Diseases. 2017;64(3):1008-11. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.12462.

59. Anheyer-Behmenburg HE, Szabo K, Schotte U, Binder A, Klein G, Johne R. Hepatitis E Virus in Wild Boars and Spillover Infection in Red and Roe Deer, Germany, 2013-2015. Emerging infectious diseases. 2017;23(1):130-3. doi: 10.3201/eid2301.161169. PubMed PMID: 27983488.

60. Loikkanen E, Oristo S, Hämäläinen N, Jokelainen P, Kantala T, Sukura A, et al. Antibodies Against Hepatitis E Virus (HEV) in European Moose and White-Tailed Deer in Finland. Food and environmental virology. 2020;12(4):333-41. doi: 10.1007/s12560-020-09442-0.

61. Kukielka D, Rodriguez-Prieto V, Vicente J, Sánchez-Vizcaíno JM. Constant Hepatitis E Virus (HEV) Circulation in Wild Boar and Red Deer in Spain: An Increasing Concern Source of HEV Zoonotic Transmission. Transboundary and Emerging Diseases. 2016;63(5):e360-e8. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.12311.

62. Di Bartolo I, Ponterio E, Angeloni G, Morandi F, Ostanello F, Nicoloso S, et al. Presence of Hepatitis E Virus in a RED Deer (Cervus elaphus) Population in Central Italy. Transboundary and Emerging Diseases. 2017;64(1):137-43. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.12353.

63. Murphy EG, Williams NJ, Jennings D, Chantrey J, Verin R, Grierson S, et al. First detection of Hepatitis E virus (Orthohepevirus C) in wild brown rats (Rattus norvegicus) from Great Britain. Zoonoses and public health. 2019;66(6):686-94. doi: https://doi.org/10.1111/zph.12581.

64. Liang H, Chen J, Xie J, Sun L, Ji F, He S, et al. Hepatitis E virus serosurvey among pet dogs and cats in several developed cities in China. PLoS One. 2014;9(6):e98068.

65. Raj VS, Smits SL, Pas SD, Provacia LB, Moorman-Roest H, Osterhaus AD, et al. Novel hepatitis E virus in ferrets, the Netherlands. Emerging infectious diseases. 2012;18(8):1369.

66. Yugo DM, Cossaboom CM, Heffron CL, Huang Y-W, Kenney SP, Woolums AR, et al. Evidence for an unknown agent antigenically related to the hepatitis E virus in dairy cows in the United States. Journal of Medical Virology. 2019;91(4):677-86. doi: https://doi.org/10.1002/jmv.25339.

67. Di Martino B, Di Profio F, Melegari I, Sarchese V, Robetto S, Marsilio F, et al. Detection of hepatitis E virus (HEV) in goats. Virus Research. 2016;225:69-72. doi: https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.09.008.

68. Sarchese V, Di Profio F, Melegari I, Palombieri A, Sanchez SB, Arbuatti A, et al. Hepatitis E virus in sheep in Italy. Transboundary and Emerging Diseases. 2019;66(3):1120-5. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.13157.

69. Zhang X, Bilic I, Troxler S, Hess M. Evidence of genotypes 1 and 3 of avian hepatitis E virus in wild birds. Virus Research. 2017;228:75-8. doi: https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.11.028.

70. Saad MD, Hussein HA, Bashandy MM, Kamel HH, Earhart KC, Fryauff DJ, et al. Hepatitis E virus Infection in Work Horses in Egypt. Infection, Genetics and Evolution. 2007;7(3):368-73. doi: https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.07.007.

71. Li S, Li M, He Q, Liang Z, Shu J, Wang L, et al. Characterization of hepatitis E virus natural infection in farmed rabbits. Journal of Viral Hepatitis. 2021;28(1):186-95. doi: https://doi.org/10.1111/jvh.13387.

72. Khuroo MS, Khuroo MS, Khuroo NS. Transmission of Hepatitis E Virus in Developing Countries. Viruses. 2016;8(9). Epub 2016/09/23. doi: 10.3390/v8090253. PubMed PMID: 27657112; PubMed Central PMCID: PMCPMC5035967.

73. King NJ, Hewitt J, Perchec-Merien A-M. Hiding in plain sight? It's time to investigate other possible transmission routes for hepatitis E virus (HEV) in developed countries. Food and environmental virology. 2018;10(3):225-52.

74. Geng Y, Wang Y. Transmission of hepatitis E virus. Hepatitis E Virus. 2016:89-112.

75. Viswanathan R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-56): a critical study-epidemiology. 1957. The National medical journal of India. 2013;26(6):362.

76. Dalton HR, Izopet J. Transmission and Epidemiology of Hepatitis E Virus Genotype 3 and 4 Infections. Cold Spring Harb Perspect Med. 2018;8(11). Epub 2018/03/14. doi: 10.1101/cshperspect.a032144. PubMed PMID: 29530946.

77. Geng Y, Wang Y. Transmission of Hepatitis E Virus. In: Wang Y, editor. Hepatitis E Virus. Dordrecht: Springer Netherlands; 2016. p. 89-112.

78. Iaconelli M, Purpari G, Della Libera S, Petricca S, Guercio A, Ciccaglione A, et al. Hepatitis A and E viruses in wastewaters, in river waters, and in bivalve molluscs in Italy. Food and environmental virology. 2015;7(4):316-24.

79. Steyer A, Naglič T, Močilnik T, Poljšak-Prijatelj M, Poljak M. Hepatitis E virus in domestic pigs and surface waters in Slovenia: prevalence and molecular characterization of a novel genotype 3 lineage. Infection, Genetics and Evolution. 2011;11(7):1732-7.

80. Rutjes SA, Lodder WJ, Lodder-Verschoor F, Van den Berg HH, Vennema H, Duizer E, et al. Sources of hepatitis E virus genotype 3 in The Netherlands. Emerging infectious diseases. 2009;15(3):381.

81. Gao S, Li D, Zha E, Zhou T, Wang S, Yue X. Surveillance of hepatitis E virus contamination in shellfish in China. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2015;12(2):2026-36.

82. Organization WH. The global prevalence of hepatitis A virus infection and susceptibility: a systematic review. 2010.

83. Salines M, Andraud M, Rose N. From the epidemiology of hepatitis E virus (HEV) within the swine reservoir to public health risk mitigation strategies: a comprehensive review. Vet Res. 2017;48(1):31. Epub 2017/05/27. doi: 10.1186/s13567-017-0436-3. PubMed PMID: 28545558; PubMed Central PMCID: PMCPMC5445439.

84. Monne I, Ceglie L, G DIM, Natale A, Zamprogna S, Morreale A, et al. Hepatitis E virus genotype 4 in a pig farm, Italy, 2013. Epidemiology and infection. 2015;143(3):529-33. Epub 2014/05/17. doi: 10.1017/s0950268814001150. PubMed PMID: 24831185.

85. Hazards EPanel oB, Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, et al. Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. EFSA Journal. 2017;15(7):e04886. doi: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4886.

86. Krumbholz A, Mohn U, Lange J, Motz M, Wenzel JJ, Jilg W, et al. Prevalence of hepatitis E virus-specific antibodies in humans with occupational exposure to pigs. Med Microbiol Immunol. 2012;201(2):239-44. Epub 2011/07/21. doi: 10.1007/s00430-011-0210-5. PubMed PMID: 21773797.

87. Teixeira J, Mesquita JR, Pereira SS, Oliveira RM, Abreu-Silva J, Rodrigues A, et al. Prevalence of hepatitis E virus antibodies in workers occupationally exposed to swine in Portugal. Med Microbiol Immunol. 2017;206(1):77-81. Epub 2016/10/23. doi: 10.1007/s00430-016-0484-8. PubMed PMID: 27770276.

88. Reuter G, Fodor D, Forgách P, Kátai A, Szucs G. Characterization and zoonotic potential of endemic hepatitis E virus (HEV) strains in humans and animals in Hungary. J Clin Virol. 2009;44(4):277-81. Epub 2009/02/17. doi: 10.1016/j.jcv.2009.01.008. PubMed PMID: 19217346.

89. Anheyer-Behmenburg HE, Szabo K, Schotte U, Binder A, Klein G, Johne R. Hepatitis E Virus in Wild Boars and Spillover Infection in Red and Roe Deer, Germany, 2013-2015. Emerg Infect Dis. 2017;23(1):130-3. Epub 2016/12/17. doi: 10.3201/eid2301.161169. PubMed PMID: 27983488; PubMed Central PMCID: PMCPMC5176221.

90. Boadella M, Casas M, Martín M, Vicente J, Segalés J, de la Fuente J, et al. Increasing contact with hepatitis E virus in red deer, Spain. Emerg Infect Dis. 2010;16(12):1994-6. Epub 2010/12/03. doi: 10.3201/eid1612.100557. PubMed PMID: 21122241; PubMed Central PMCID: PMCPMC3294580.

91. Geng J, Wang L, Wang X, Fu H, Bu Q, Liu P, et al. Potential risk of zoonotic transmission from young swine to human: seroepidemiological and genetic characterization of hepatitis E virus in human and various animals in Beijing, China. J Viral Hepat. 2011;18(10):e583-90. Epub 2011/09/15. doi: 10.1111/j.1365-2893.2011.01472.x. PubMed PMID: 21914080.

92. Dong C, Meng J, Dai X, Liang JH, Feagins AR, Meng XJ, et al. Restricted enzooticity of hepatitis E virus genotypes 1 to 4 in the United States. J Clin Microbiol. 2011;49(12):4164-72. Epub 2011/10/15. doi: 10.1128/jcm.05481-11. PubMed PMID: 21998412; PubMed Central PMCID: PMCPMC3232956.

93. Wu J, Si F, Jiang C, Li T, Jin M. Molecular detection of hepatitis E virus in sheep from southern Xinjiang, China. Virus Genes. 2015;50(3):410-7. Epub 2015/04/03. doi: 10.1007/s11262-015-1194-9. PubMed PMID: 25833205; PubMed Central PMCID: PMCPMC4445917.

94. Liang H, Chen J, Xie J, Sun L, Ji F, He S, et al. Hepatitis E virus serosurvey among pet dogs and cats in several developed cities in China. PLoS One. 2014;9(6):e98068. Epub 2014/06/05. doi: 10.1371/journal.pone.0098068. PubMed PMID: 24896257; PubMed Central PMCID: PMCPMC4045666.

95. Hammerschmidt F, Schwaiger K, Dähnert L, Vina-Rodriguez A, Höper D, Gareis M, et al. Hepatitis E virus in wild rabbits and European brown hares in Germany. Zoonoses and public health. 2017;64(8):612-22. Epub 2017/04/04. doi: 10.1111/zph.12355. PubMed PMID: 28371421.

96. Obana S, Shimizu K, Yoshimatsu K, Hasebe F, Hotta K, Isozumi R, et al. Epizootiological study of rodent-borne hepatitis E virus HEV-C1 in small mammals in Hanoi, Vietnam. J Vet Med Sci. 2017;79(1):76-81. Epub 2016/11/01. doi: 10.1292/jvms.16-0355. PubMed PMID: 27795461; PubMed Central PMCID: PMCPMC5289241.

97. Khuroo M, Kamili S. Aetiology, clinical course and outcome of sporadic acute viral hepatitis in pregnancy. Journal of viral hepatitis. 2003;10(1):61-9.

98. Wu C, Wu X, Xia J. Hepatitis E virus infection during pregnancy. Virology Journal. 2020;17(1):1-11.

99. Yang C, Yu W, Bi Y, Long F, Li Y, Wei D, et al. Increased oestradiol in hepatitis E virus-infected pregnant women promotes viral replication. Journal of Viral Hepatitis. 2018;25(6):742-51. doi: https://doi.org/10.1111/jvh.12865.

100. Pérez-Gracia MT, Suay-García B, Mateos-Lindemann ML. Hepatitis E and pregnancy: current state. Reviews in Medical Virology. 2017;27(3):e1929. doi: https://doi.org/10.1002/rmv.1929.

101. Javed N, Ullah SH, Hussain N, Sheikh MA, Khan A, Ghafoor F, et al. Hepatitis E virus seroprevalence in pregnant women in Pakistan: maternal and fetal outcomes. Eastern Mediterranean Health Journal. 2017;23(8):559-63.

102. Prasad GS, Prasad S, Bhupali A, Patil AN, Parashar K. A Study of Hepatitis E in Pregnancy: Maternal and Fetal Outcome. The Journal of Obstetrics and Gynecology of India. 2016;66(1):18-23. doi: 10.1007/s13224-015-0749-y.

103. Bergløv A, Hallager S, Weis N. Hepatitis E during pregnancy: Maternal and foetal case-fatality rates and adverse outcomes—A systematic review. Journal of Viral Hepatitis. 2019;26(11):1240-8. doi: https://doi.org/10.1111/jvh.13129.

104. Khuroo MS, Kamali S, Jameel S. Vertical transmission of hepatitis E virus. The Lancet. 1995;345(8956):1025-6.

105. Satake M, Matsubayashi K, Hoshi Y, Taira R, Furui Y, Kokudo N, et al. Unique clinical courses of transfusion-transmitted hepatitis E in patients with immunosuppression. Transfusion. 2017;57(2):280-8. doi: https://doi.org/10.1111/trf.13994.

106. Gallian P, Pouchol E, Djoudi R, Lhomme S, Mouna L, Gross S, et al. Transfusion-Transmitted Hepatitis E Virus Infection in France. Transfusion Medicine Reviews. 2019;33(3):146-53. doi: https://doi.org/10.1016/j.tmrv.2019.06.001.

107. Domanović D, Tedder R, Blümel J, Zaaijer H, Gallian P, Niederhauser C, et al. Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: a shift to screening? Eurosurveillance. 2017;22(16):30514.

108. De Schryver A, De Schrijver K, François G, Hambach R, van Sprundel M, Tabibi R, et al. Hepatitis E virus infection: an emerging occupational risk? Occupational Medicine. 2015;65(8):667-72. doi: 10.1093/occmed/kqv154.

109. Krumbholz A, Mohn U, Lange J, Motz M, Wenzel JJ, Jilg W, et al. Prevalence of hepatitis E virus-specific antibodies in humans with occupational exposure to pigs. Medical microbiology and immunology. 2012;201(2):239-44.

110. Teixeira J, Mesquita J, Pereira S, Oliveira R, Abreu-Silva J, Rodrigues A, et al. Prevalence of hepatitis E virus antibodies in workers occupationally exposed to swine in Portugal. Medical microbiology and immunology. 2017;206(1):77-81.

111. Tritz SE, Khounvisith V, Pommasichan S, Ninnasopha K, Keosengthong A, Phoutana V, et al. Evidence of increased Hepatitis E virus exposure in Lao villagers with contact to ruminants. Zoonoses and public health. 2018;65(6):690-701. doi: https://doi.org/10.1111/zph.12483.

112. Geng Y, Zhao C, Geng K, Wang C, Wang X, Liu H, et al. High seroprevalence of hepatitis E virus in rabbit slaughterhouse workers. Transboundary and Emerging Diseases. 2019;66(2):1085-9. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.13130.

113. Caruso C, Modesto P, Prato R, Scaglione FE, De Marco L, Bollo E, et al. Hepatitis E Virus: First Description in a Pet House Rabbit. A New Transmission Route for Human? Transboundary and Emerging Diseases. 2015;62(3):229-32. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.12348.

114. Mansuy JM, Huynh A, Abravanel F, Recher C, Peron JM, Izopet J. Molecular evidence of patient-to-patient transmission of hepatitis E virus in a hematology ward. Clin Infect Dis. 2009;48(3):373-4. Epub 2009/01/09. doi: 10.1086/595893. PubMed PMID: 19128164.

115. Lenggenhager D, Weber A. Clinicopathologic features and pathologic diagnosis of hepatitis E. Human pathology. 2020;96:34-8.

116. Spahr C, Knauf-Witzens T, Vahlenkamp T, Ulrich RG, Johne R. Hepatitis E virus and related viruses in wild, domestic and zoo animals: A review. Zoonoses and public health. 2018;65(1):11-29. doi: https://doi.org/10.1111/zph.12405.

117. WHO. Hepatitis E 2019 [updated 8 July 2019]. Available from: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e.

118. Barnaud E, Rogée S, Garry P, Rose N, Pavio N. Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. Appl Environ Microbiol. 2012;78(15):5153-9.

119. Detection of Hepatitis E Virus in Raw Pork and Pig Viscera As Food in Hebei Province of China. Foodborne Pathogens and Disease. 2019;16(5):325-30. doi: 10.1089/fpd.2018.2572. PubMed PMID: 30807231.

120. García N, Hernández M, Gutierrez-Boada M, Valero A, Navarro A, Muñoz-Chimeno M, et al. Occurrence of Hepatitis E Virus in Pigs and Pork Cuts and Organs at the Time of Slaughter, Spain, 2017. Frontiers in Microbiology. 2020;10(2990). doi: 10.3389/fmicb.2019.02990.

121. Geng Y, Zhao C, Guo T, Xu Y, Wang X, Huang W, et al. Detection of Hepatitis E Virus in Raw Pork and Pig Viscera As Food in Hebei Province of China. Foodborne Pathog Dis. 2019;16(5):325-30. Epub 2019/02/27. doi: 10.1089/fpd.2018.2572. PubMed PMID: 30807231.

122. Porea D, Anita A, Demange A, Raileanu C, Oslobanu L, Anita D, et al. Molecular detection of hepatitis E virus in wild boar population in eastern Romania. Transboundary and Emerging Diseases. 2018;65(2):527-33. doi: https://doi.org/10.1111/tbed.12736.

123. Slot E, Zaaijer HL, Molier M, Van den Hurk K, Prinsze F, Hogema BM. Meat consumption is a major risk factor for hepatitis E virus infection. PLoS One. 2017;12(4):e0176414.

124. Szabo K, Trojnar E, Anheyer-Behmenburg H, Binder A, Schotte U, Ellerbroek L, et al. Detection of hepatitis E virus RNA in raw sausages and liver sausages from retail in Germany using an optimized method. International journal of food microbiology. 2015;215:149-56. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09.013.

125. Heldt FH, Staggmeier R, Gularte JS, Demoliner M, Henzel A, Spilki FR. Hepatitis E Virus in Surface Water, Sediments, and Pork Products Marketed in Southern Brazil. Food and environmental virology. 2016;8(3):200-5. doi: 10.1007/s12560-016-9243-7.

126. Mykytczuk O, Harlow J, Bidawid S, Corneau N, Nasheri N. Prevalence and Molecular Characterization of the Hepatitis E Virus in Retail Pork Products Marketed in

Canada. Food and environmental virology. 2017;9(2):208-18. doi: 10.1007/s12560-017-9281-9.

127. Moor D, Liniger M, Baumgartner A, Felleisen R. Screening of Ready-to-Eat Meat Products for Hepatitis E Virus in Switzerland. Food and environmental virology. 2018;10(3):263-71. doi: 10.1007/s12560-018-9340-x.

128. Wu J, Si F, Jiang C, Li T, Jin M. Molecular detection of hepatitis E virus in sheep from southern Xinjiang, China. Virus Genes. 2015;50(3):410-7.

129. Long F, Yu W, Yang C, Wang J, Li Y, Li Y, et al. High prevalence of hepatitis E virus infection in goats. Journal of Medical Virology. 2017;89(11):1981-7. doi: https://doi.org/10.1002/jmv.24843.

130. Dziedzinska R, Krzyzankova M, Bena M, Vasickova P. Evidence of Hepatitis E Virus in Goat and Sheep Milk. Viruses. 2020;12(12):1429. PubMed PMID: doi:10.3390/v12121429.

131. El-Mokhtar MA, Elkhawaga AA, Sayed IM. Assessment of hepatitis E virus (HEV) in the edible goat products pointed out a risk for human infection in Upper Egypt. International journal of food microbiology. 2020;330:108784. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108784.

132. La Rosa G, Proroga YTR, De Medici D, Capuano F, Iaconelli M, Della Libera S, et al. First Detection of Hepatitis E Virus in Shellfish and in Seawater from Production Areas in Southern Italy. Food and environmental virology. 2018;10(1):127-31. doi: 10.1007/s12560-017-9319-z.

133. Terio V, Bottaro M, Pavoni E, Losio MN, Serraino A, Giacometti F, et al. Occurrence of hepatitis A and E and norovirus GI and GII in ready-to-eat vegetables in Italy. International journal of food microbiology. 2017;249:61-5. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.008.

134. Randazzo W, Vásquez-García A, Bracho MA, Alcaraz MJ, Aznar R, Sánchez G. Hepatitis E virus in lettuce and water samples: A method-comparison study. International journal of food microbiology. 2018;277:34-40. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.008.

135. Imagawa T, Sugiyama R, Shiota T, Li T-C, Yoshizaki S, Wakita T, et al. Evaluation of heating conditions for inactivation of hepatitis e virus genotypes 3 and 4. Journal of food protection. 2018;81(6):947-52.

136. WHO WHO. Hepatitis E 2019 [updated 8 July 2019]. Available from: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e.

137. Nimgaonkar I, Ding Q, Schwartz RE, Ploss A. Hepatitis E virus: advances and challenges. Nature reviews Gastroenterology & hepatology. 2018;15(2):96-110. Epub 2017/11/23. doi: 10.1038/nrgastro.2017.150. PubMed PMID: 29162935.

138. Baha S, Behloul N, Liu Z, Wei W, Shi R, Meng J. Comprehensive analysis of genetic and evolutionary features of the hepatitis E virus. BMC genomics. 2019;20(1):1-16.

139. Kasem A, Azeem K, Vlckova J, Zatloukalova S, Stepanek L, Kysely Z, et al. Epidemiology of hepatitis E virus infection. Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie : casopis Spolecnosti pro epidemiologii a mikrobiologii Ceske lekarske spolecnosti JE Purkyne. 2019;68(4):176-82. Epub 2020/01/10. PubMed PMID: 31914774.

140. Al-Sadeq DW, Majdalawieh AF, Mesleh AG, Abdalla OM, Nasrallah GK. Laboratory challenges in the diagnosis of hepatitis E virus. Journal of medical microbiology. 2018;67(4):466-80. Epub 2018/02/28. doi: 10.1099/jmm.0.000706. PubMed PMID: 29485390.

141. Wang H, Kjellberg I, Sikora P, Rydberg H, Lindh M, Bergstedt O, et al. Hepatitis E virus genotype 3 strains and a plethora of other viruses detected in raw and still in tap water. Water research. 2020;168:115141. Epub 2019/10/08. doi: 10.1016/j.watres.2019.115141. PubMed PMID: 31590036.

142. Chen YJ, Cao NX, Xie RH, Ding CX, Chen EF, Zhu HP, et al. Epidemiological investigation of a tap water-mediated hepatitis E virus genotype 4 outbreak in Zhejiang Province, China. Epidemiology and infection. 2016;144(16):3387-99. Epub 2016/08/23. doi: 10.1017/s0950268816001898. PubMed PMID: 27546066.

143. Korsman S, Bloemberg J, Brombacher M, Giuricich A, Halley-Stott RP, Kaba M. Hepatitis E in pig-derived food products in Cape Town, South Africa, 2014. South African

medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde. 2019;109(8):584-6. Epub 2019/08/29. doi: 10.7196/SAMJ.2019.v109i8.13868. PubMed PMID: 31456553.

144. Geng Y, Wang Y. Transmission of Hepatitis E Virus. Advances in experimental medicine and biology. 2016;948:89-112. Epub 2016/10/16. doi: 10.1007/978-94-024-0942-0_6. PubMed PMID: 27738981.

145. Leblebicioglu H, Ozaras R. Hepatitis E virus infection in Turkey: a systematic review. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 2018;17(1):17. Epub 2018/05/03. doi: 10.1186/s12941-018-0269-6. PubMed PMID: 29716597; PubMed Central PMCID: PMCPMC5930810.

146. Ceylan A, Ertem M, Ilcin E, Ozekinci T. A special risk group for hepatitis E infection: Turkish agricultural workers who use untreated waste water for irrigation. Epidemiology & Infection. 2003;131(1):753-6.

147. Aydin H, Uyanik MH, Karamese M, Timurkan MO. Seroprevalence of hepatitis e virus in animal workers in nonporcine consumption region of Turkey. Future Virology. 2016;11(10):691-7.

148. Demirci M, Yigin A, Unlu O, Kilic Altun S. [Detection of HEV RNA amounts and genotypes in raw milks obtained from different animals]. Mikrobiyoloji bulteni. 2019;53(1):43-52. Epub 2019/01/27. doi: 10.5578/mb.67468. PubMed PMID: 30683038.

149. Garson JA, Ferns RB, Grant PR, Ijaz S, Nastouli E, Szypulska R, et al. Minor groove binder modification of widely used TaqMan probe for hepatitis E virus reduces risk of false negative real-time PCR results. Journal of virological methods. 2012;186(1-2):157-60.

150. Leutenegger CM, Alluwaimi AM, Smith WL, Perani L, Cullor JS. Quantitation of bovine cytokine mRNA in milk cells of healthy cattle by real-time TaqMan® polymerase chain reaction. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2000;77(3):275-87. doi: https://doi.org/10.1016/S0165-2427(00)00243-9.

151. Jefferies M, Rauff B, Rashid H, Lam T, Rafiq S. Update on global epidemiology of viral hepatitis and preventive strategies. World journal of clinical cases. 2018;6(13):589.

152. Khuroo MS, Khuroo MS, Khuroo NS. Transmission of hepatitis E virus in developing countries. Viruses. 2016;8(9):253.

153. Dalton HR, Seghatchian J. Hepatitis E virus: Emerging from the shadows in developed countries. Transfusion and Apheresis Science. 2016;55(3):271-4.

154. Yaşar O, Karatayli E, Cengiz G, Kızılpınar M, Yurdcu E, Albayrak R, et al. HEV seroprevalence in blood donors in Turkey by two commercial total anti-HEV Ab ELISA kits. Journal of Medical Virology. 2019;91(12):2174-81. doi: https://doi.org/10.1002/jmv.25567.

155. Aydın NN, Ergünay K, Karagül A, Pınar A, Us D. [Investigation of the hepatitis E virus seroprevalence in cases admitted to Hacettepe University Medical Faculty Hospital]. Mikrobiyoloji bulteni. 2015;49(4):554-64. Epub 2015/12/10. doi: 10.5578/mb.9881. PubMed PMID: 26649413.

156. Balaban HY, Aslan AT, Akdoğan Kittana FN, Alp A, Dağ O, Ayar ŞN, et al. Hepatitis E virus seroprevalence and associated risk factors in high-risk groups: A cross-sectional study from Turkey. medRxiv. 2021:2021.01.25.21250429. doi: 10.1101/2021.01.25.21250429.

157. TONBAK F. Koyun ve sığırlarda hepatit E virüsünün serolojik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi DNA dizi analizi [Nicel]. Tez merkizi Atatürk Üniversitesi; 2019.

158. Krain LJ, Nelson KE, Labrique AB. Host Immune Status and Response to Hepatitis E Virus Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2014;27(1):139-65. doi: 10.1128/cmr.00062-13.

159. Demirci M, Yiğin A, Ünlü Ö, Kılıç Altun S. [Detection of HEV RNA amounts and genotypes in raw milks obtained from different animals]. Mikrobiyoloji bulteni. 2019;53(1):43-52. Epub 2019/01/27. doi: 10.5578/mb.67468. PubMed PMID: 30683038.

160. Ceylan A, Ertem M, Ilcin E, Ozekinci T. A special risk group for hepatitis E infection: Turkish agricultural workers who use untreated waste water for irrigation. Epidemiology and infection. 2003;131(1):753-6. Epub 2003/09/02. doi: 10.1017/s0950268803008719. PubMed PMID: 12948376; PubMed Central PMCID: PMCPMC2870017.

161. Long F, Yu W, Yang C, Wang J, Li Y, Li Y, et al. High prevalence of hepatitis E virus infection in goats. J Med Virol. 2017;89(11):1981-7. Epub 2017/05/04. doi: 10.1002/jmv.24843. PubMed PMID: 28464334.

162. Li S, Liu M, Cong J, Zhou Y, Miao Z. Detection and Characterization of Hepatitis E Virus in Goats at Slaughterhouse in Tai'an Region, China. Biomed Res Int. 2017;2017:3723650. Epub 2018/01/31. doi: 10.1155/2017/3723650. PubMed PMID: 29379797; PubMed Central PMCID: PMCPMC5742876.

163. Geng Y, Zhao C, Huang W, Wang X, Xu Y, Wu D, et al. Hepatitis E virus was not detected in feces and milk of cows in Hebei province of China: No evidence for HEV prevalence in cows. International journal of food microbiology. 2019;291:5-9. Epub 2018/11/13. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.002. PubMed PMID: 30419475.

164. Vercouter AS, Sayed IM, Lipkens Z, De Bleecker K, De Vliegher S, Colman R, et al. Absence of zoonotic hepatitis E virus infection in Flemish dairy cows. International journal of food microbiology. 2018;281:54-9. Epub 2018/06/01. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.009. PubMed PMID: 29852395.

165. Palombieri A, Robetto S, Di Profio F, Sarchese V, Fruci P, Bona MC, et al. Surveillance Study of Hepatitis E Virus (HEV) in Domestic and Wild Ruminants in Northwestern Italy. Animals (Basel). 2020;10(12). Epub 2020/12/16. doi: 10.3390/ani10122351. PubMed PMID: 33317114; PubMed Central PMCID: PMCPMC7764585.

166. El-Mokhtar MA, Elkhawaga AA, Sayed IM. Assessment of hepatitis E virus (HEV) in the edible goat products pointed out a risk for human infection in Upper Egypt. International journal of food microbiology. 2020;330:108784. Epub 2020/07/14. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108784. PubMed PMID: 32659521.

167. Go HJ, Park BJ, Ahn HS, Lyoo EL, Kim DH, Lee JB, et al. Identification of Hepatitis E Virus in Bovine and Porcine Raw Livers. J Microbiol Biotechnol. 2019;29(12):2022-5. Epub 2019/11/23. doi: 10.4014/jmb.1910.10059. PubMed PMID: 31752068.

168. Feurer C, Le Roux A, Rossel R, Barnaud E, Dumarest M, Garry P, et al. High load of hepatitis E viral RNA in pork livers but absence in pork muscle at French slaughterhouses.

International journal of food microbiology. 2018;264:25-30. Epub 2017/11/07. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.013. PubMed PMID: 29107193.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Amtalsaboor Ahmed Abdulqudos ALMAHBASHI

Doğum Yeri: Sana’ a-Yemen

Doğum Tarihi: 01.01.1990

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: Arapça, İngilizce, Türkçe

Eğitim Durumu

Lise: Arwa Lisesi (2006-2008)

Lisans: Sana’ a Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi laboratuvar (2010-2014)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Temel Biyoteknoloji (2018)

Yayınlar ve Bildiriler

ALMAHBASHI AAA. Hepatitis C virus epidemiology in Yemen: Systematic review. The Turkish Journal of Academic Gastroenterology 2021; 20:49-58.

DOI: 10.17941/agd.923259

İş Deneyimi

Eğitim yardımı: Hajjah Üniversitesi (01.03.2016 – 01.09.2017)

Laboratuvar tıbbı uzmanı: Amal Tıp Kliniği (01.03.2016- 30.08.2016)

TEZDEN ÇIKAN YAYINLARİ



Hepatitis C virus epidemiology in Yemen: Systematic review

Yemen'de hepatit C virüsü epidemiyolojisi: Sistematik derleme

Amtalsaboor A. A. ALMAHBASHI

Ankara University, Biotechnology Institute, Ankara

Bacground and Aims: *To identify and well-characterize the prevalence of hepatitis C virus infection in different populations in Yemen. Also, to determine the future epidemiological study areas in Yemen.* ***Materials and Methods:*** *A systematic review was conducted with the use of the PRISMA guidelines. Between 1980 to 2020, a comprehensive search was done for any epidemiological data on hepatitis C in Yemen that were conducted in each PubMed, web of Science, Scopus, and Google Scholar.* ***Results:*** *Forty-nine (49) studies were matching the inclusion and exclusion criteria from the four databases. After analyzing these 49 studies we found that in the general group of the population the prevalence was ranged between 0.07%-8.5%. Where the highest prevalence was in pregnant women (up to 8.5%) then the public (up to 6%) then blood donors and children up to 3% and 2.8% respectively. In the intermediate-risk group, hepatitis C virus infection prevalence was ranged between 1.03%-3.5% where all population was from the health department workers. In the high-risk group, the range was between 6.4%-62.7%, and the highest prevalence was recorded in liver disease patients. In the patient's group the range of hepatitis C virus infection prevalence was between 0%-46%, while the sickle cell anemia patients were the lowest prevalence the chronic renal failure patients had the highest prevalence.* ***Conclusion:*** *This systemic review demonstrates a high prevalence of hepatitis C infection in Yemen. There is also a need to expand the scope of research and pay attention to new research groups and other cities to get a more comprehensive idea of the prevalence of the hepatitis C virus in Yemen.*

Key words: *Hepatitis C virus, epidemiology, Yemen, systematic review*

Giriş ve Amaç: *Yemen'deki farklı popülasyonlarda hepatit C virüsü enfeksiyonunun prevalansını belirlemek, iyi karakterize etmek ve ayrıca, Yemen'de gelecekteki epidemiyolojik çalışma alanlarını belirlemektir.* ***Gereç ve Yöntem:*** *PRISMA yönergelerinin kullanımıyla sistematik bir inceleme yapıldı. Yemen'deki hepatit C ile ilgili; PubMed, web of Science, Scopus ve Google Scholar'da 1980 ile 2020 arasında yürütülen, herhangi bir epidemiyolojik veri için kapsamlı bir araştırma yapıldı.* ***Bulgular:*** *Kırk dokuz (49) çalışma, dört veri tabanındaki dahil etme ve dışlama kriterleriyle eşleşti. Bu 49 çalışmanın analizi ile nüfusun genel grubunda prevalansın %0.07-%8.5 arasında değiştiğini bulduk. En yüksek prevalansın hamile kadınlarda olduğu (%8.5'e kadar), ardından genel (%6'ya kadar), ardından da sırasıyla %3 ve %2.8 ile kan bağışçıları ve çocuklarda olduğu görüldü. Orta risk grubunda, tüm popülasyon sağlık departmanı çalışanlarından olmak üzere, hepatit C virüsü enfeksiyonu prevalansı %1.03-3.5 arasında değişiyordu. Yüksek riskli grupta, prevalans aralığı %6.4-%62.7 arasında olup, en yüksek prevalans karaciğer hastalığı olanlarda kaydedilmiştir. Hasta grubunda hepatit C virüsü enfeksiyonu prevalansı aralığı %0-%46 arasındayken, orak hücreli anemili hastalar en düşük prevalansa, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarsa en yüksek prevalansa sahipti.* ***Sonuç:*** *Bu sistemik derleme, Yemen'deki hepatit C enfeksiyonu prevalansının yüksek olduğunu göstermektedir. Yemen'deki hepatit C virüsünün prevalansı hakkında daha kapsamlı bir fikir edinmek için araştırma kapsamını genişletmeye ve yeni araştırma gruplarına ve diğer şehirlere dikkat etmeye ihtiyaç vardır.*

Anahtar kelimeler: *Hepatit C virüs, epidemiyoloji, Yemen, sistematik derleme*

INTRODUCTION

Hepatitis C virus (HCV) is causing chronic liver disease, hepatocellular carcinoma, and cirrhosis. where this virus is a blood-borne disease and progresses from acute to chronic infection in the liver. Also, it associates with several morbidities, and it is the reason for a lot of liver transplantation in many countries (1,2). Also, it considers as The seventh leading cause of death globally and the fifth in the Middle East and North Africa (MENA) (3,4). Globally about 71 million people infected with HCV where the most affected region is MENA region with nearly 15 million infected persons (5). Even though the related mortality of HCV strains healthcare systems worldwide, the Direct-acting antivirals (DAAs) give promising prospects to clear HCV infection and reduce HCV disease burden in the soon future (6). Whereas the elimination of hepatitis C virus by 2030 is a global goal for the World Health Organization (WHO). The epidemiology of hepatitis C in Yemen is still not well described, and it needs to define the prevalence in different populations and define the areas of a future epidemiological study in Yemen which are the objectives of this systematic review (7,8).

Correspondence: Amtalsaboor A. A. ALMAHBASHI
Ankara University, Biotechnology Institute,
Gümüşdere 60. Yıl Yerleşkesi, Keçiören/ ANKARA
E-mail: amtalsaboor1@gmail.com

ALMAHBASHI AAA. Hepatitis C virus epidemiology in Yemen: Systematic review. The Turkish Journal of Academic Gastroenterology 2021;20:49-58.
DOI: 10.17941/agd.923259

Manuscript received: 20.04.2021 • **Accepted:** 27.04.2021

akademik gastroenteroloji dergisi 2021; 20(1): 49-58

MATERIALS and METHODS

The preparation of this systematic review was done according to the PRISMA guideline (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (9). The articles were searched in four main biomedical and health databases of Scopus, PubMed, Web of Science, and Google Scholar. In the first three databases, the research was done without any language restriction, but the period of the search was restricted from 1980 to the end of 2020 because the discovery of HCV was in 1989 (10). The search was done using the terms of "hepatitis C or HCV or anti-HCV or HCV antibody or core HCV antigen or HCVcAg or HCV RNA and Yemen or limited to Yemen" in the three databases to determine all publications about HCV from Yemen. All identified articles from these databases were exported to endnote for processing. But in Google Scholar, the research was done by using keywords of "hepatitis C or HCV and Yemen" and the same period restriction as in the other database by screening the titles of all the articles that could be related to our inclusion and exclusion criteria and then exported to the Endnote. The duplicate articles were identified and excluded from all the articles in the Endnote. The remaining unique articles were undergone to a two-stage screening process. In the first stage, all the articles' titles and abstracts were screened for relation to the aim. The related or it could be related articles proceeded to the next stage of screening, wherein this stage full-texts were evaluated according to our inclusion/exclusion criteria. Eligible articles were included in this study, and ineligible articles were excluded according to criteria. The summary of the whole process can be found in the diagram in Figure 1 that was produced according to the PRISMA guideline.

The Inclusion and Exclusion Criteria

Briefly, every article reporting any epidemiological data of the prevalence and incidence of Hepatitis C virus in Yemen was included. The excluded articles were case reports, case series, reviews, articles that contained duplicate information, articles that their full text is not available, and if the study population was Yemeni nationals residing outside Yemen.

Data Analysis and Population Classification

The rest articles were analyzed by identifying and presenting as tables in Excel included these data: authors, year of sample collection, year of publishing, type of study, sample size, prevalence, study site, prevalence by gender, Governorate, population, and test type. Then the population was divided into four groups 1-General population (low-risk group): included blood donors, public people, pregnant women, children, and healthy controls. 2-Inter-

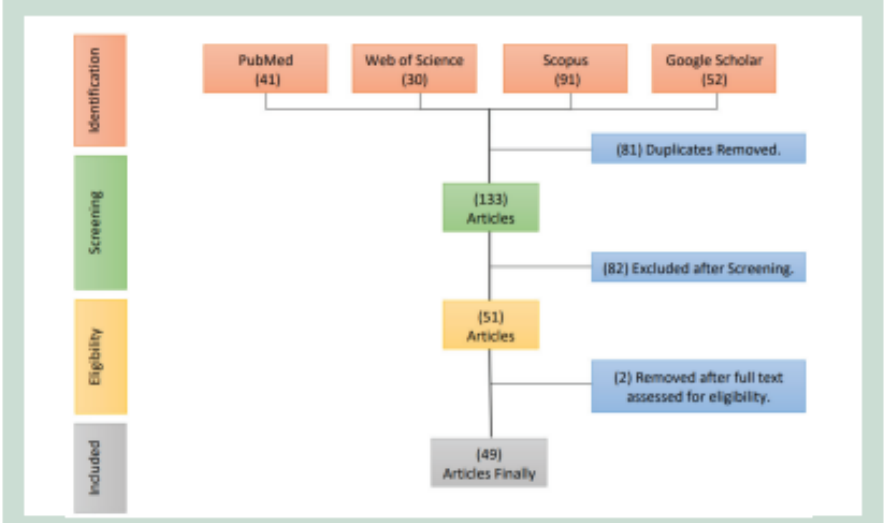


Figure 1. PRISMA's diagram for HCV epidemiology in Yemen.

mediate risk group: included workers in various medical fields or in health departments. 3- High-risk group: included patients with hepatocellular carcinoma, liver disease, and hemodialysis. 4- Patient from other diseases: included all other patients from different clinics and diseases.

RESULTS

The results and the steps for the articles search were summarizing in flow diagram (Figure 1). From the four databases a total of 214 articles were identified; about 81 duplicates articles were removed, then 82 articles were removed after the title and abstract screening. The remaining 51 publications that met the inclusion criteria were screened again with the full text, two of them were excluded due to not meeting the inclusion criteria. Finally, 49 studies were meeting the inclusion criteria for result analysis.

From our result we can found that in the year of publishing the period between 2016-2020 was having the highest publishing numbers (n = 20, 40.8%) then 2011-2015 with (n = 16, 32.6%), where 2006-2010, 2001-2005, 1996-2000, and 1990-1995 have the number of publishing n = 5, n = 3, n = 2, and n = 3 respectively (Figure 2). While the study type of all the researches were cross-sectional studies except one research was case-control where it has a 9.9% HCV of prevalence in it (11). Also, among the studies reporting the prevalence of hepatitis C by gender (n = 30 studies) the prevalence range for both genders was similar, where it was in the females between 0%- 62.5% and the males between 0%-63.3%. According to the governorate, about 27 studies were conducted in the Sana'a governorate altogether involved a prevalence range between 0.2%-54.2%. The governorate distribution of studies was Aden (n = 8), Al-hudaydah (n = 6), Ibb (n = 5), Taiz (n = 4), Hadhramaut (n = 2), Hajjah (n = 2), and for each of Amran, Dhamar, Raymah, Sa'dah, and Socotra one study as seen in (Figure 3). Where sample sizes across the forty-nine stud-

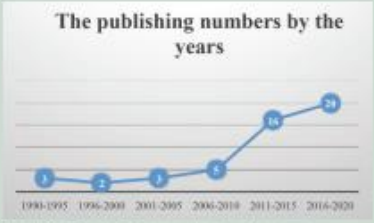


Figure 2. The publishing numbers by the years.

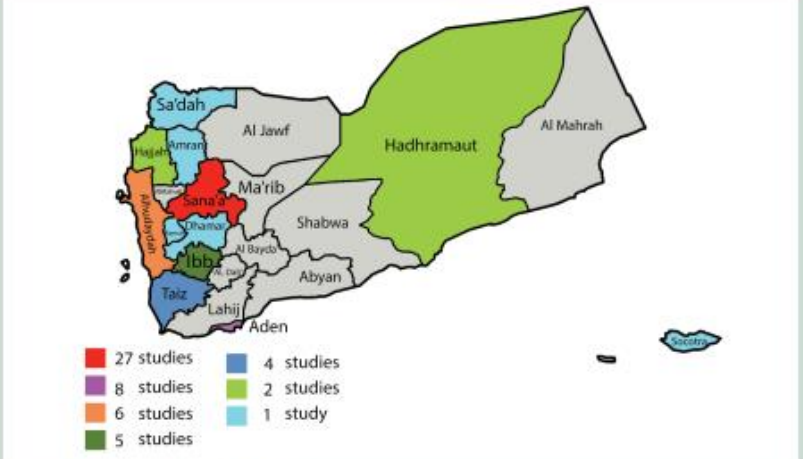


Figure 3. Distribution of HCV studies in Yemen.

Table 1. General population group

Authors, References	Year of Sample Collection	Year of Publishing	Type of Study	Sample Size	Prevalence of HCV	Prevalence by Gender	Study Site	Governorate	Population	Test Type
Scott et al. (12)	1988	1992	CS	348	6%	M=2.8%, F=2.2	Schools, houses	Sana'a, Hajjah, Taiz, Alhudaydah	Public	ELISA, RIBA*
El Guneid. et al. (13)	Na	1993	CS	294	1.00%	Na	Blood bank	Taiz	Blood doners (as control)	EIA
El Guneid et al. (13)	Na	1993	CS	243	3.30%	Na	Hospital	Taiz	Pregnant women (as control)	EIA
Gray et al. (14)	1992	1999	CS	627	0.30%	Na	Houses	Ibb, Hajjah	Public	EIA
Al-Moslih & Al-Huraibi (15).	Na	2001	CS	120	4.20%	Na	Hospital	Sana'a	Public (health control)	ELISA
Sallam et al. (16)	Na	2003	CS	Aden=494, Sana'a=493	Aden=0.6, Sana'a=0.2	Na	Blood bank	Sana'a, Aden	Blood donors	EIA, RIBA*
Sallam et al. (16)	Na	2003	CS	African Ethnic=97, and Soqotra Island=99	African=5.2%, Soqotra Island=5.1%	African Residents (F=4.3%, M=5.9%), Soqotra (F=2%, M=7.8%)	Blood bank	Sana'a, Socotra Island	Public	EIA, RIBA*
Sultan et al. (17)	2008-2010	2010	CS	3602	1.05%	M=1.05%	Blood bank	Sana'a	Blood donors	MEIA
Bin Selm (18)	2007	2010	CS	100	0.80%	Na	Blood bank	Aden	Blood donors (as control)	NA
Al-Shamiri et al. (19)	2007-2009	2011	CS	214	2.80%	Na	Schools	Taiz	Children	NA
Saghir et al. (20)	2008- 2010	2012	CS	1483	0.79%	Na	Blood bank	Alhudaydah	Blood donors	ICT
Alodini (21)	2010	2012	CS	3000	3%	Na	Blood bank	Sana'a	Blood donors	ELISA
Al-Waleedi & Khader (22)	2007	2012	CS	469	1.30%	Na	Blood bank	Aden	Blood donors	EIA
Gacche & Al Mohani (23)	2010	2012	CS	554	1.99%	M=0.18%, F=1.81%	Houses	Ibb	Public	ICT, EIA*
Gacche & Al-Mohani (24)	2010-2011	2012	CS	2379	1.30%	M=0.29%, F=1.01%	Houses	Ibb	Public	ICT, ELISA*
Murad et al. (25)	2011	2013	CS	400	8.50%	Na	Hospital	Sana'a	Pregnant women	ELISA
Al-Nabehi et al. (26)	Na	2015	CS	501	Sana'a (1.5%), Taiz (0.6%) and Aden (0%).	Na	High, schools universities	Sana'a, Aden, Taiz	Public	ELISA
Al-Zubiery et al. (27)	2016	2017	CS	11374	1%	M=1%, F=0.9%	Blood bank	Sana'a	Blood donors	ECLIA
Al-Zubiery et al. (28)	2016-2017	2017	CS	3606	1.60%	M=1.60%	Blood bank	Sana'a	Blood donors	EIA
Al-Kadassy et al. (29)	2012-2015	2017	CS	1286	1.60%	M=1.6%	Houses	Alhudaydah	Public	ELISA
Al-Hatheq et al. (30)	2018	2019	CS	500	2.80%	Na	Blood bank	Amran	Blood donors	ICT, ELISA*
Ghaleb et al. (31)	2017	2020	CS	340	1.20%	Na	Blood bank	Sana'a	Blood donors	ECLIA, ELISA*
Bin Barkat & Naseeb (32)	2019	2020	CS	300	0.07%	F=0.07%	Clinics	Hadhramaut	Pregnant women	ELISA

*=Confirmed test.

HCV: Hepatitis C virus, ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay, RIBA: Recombinant immunoblot assay, EIA: Enzyme immunoassay, MEIA: Microparticle enzyme immunoassay, NA: Not available, ICT: Immune-chromatographic technique, ECLIA: Electrochemiluminescence immunoassay analyzer, CS: Cross-sectional, F: Female, M: Male,

ies ranged from 30 to 11 374 participate. On the other hand, seven different techniques used to test HCV in the 46 studies where 3 studies did not clarify what technic was used. Twenty-nine studies used Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) as the main test for HCV and 3 studies used it as a confirmed test. Enzyme immunoassay (EIA) was used in 8 studies as main and in one study was as a confirmed test. The immune-chromatographic technique (ICT) in five studies, electrochemiluminescence immunoassay analyzer (ECLIA) in two studies, but each of microparticle enzyme immunoassay (MEIA), and Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) was used only one study. While recombinant Immunoblot Assay (RIBA) and Polymerase Chain Reaction (PCR) used only as a confirmed test. RIBA was in 3 studies and PCR was in one study. Besides that, all the articles were HCV prevalence only there were not any incidence studies.

The prevalence of HCV was different according to the population groups as we divided the population into four groups, the prevalence according population is:

General Group (low risk group)

In the general group of the population, the prevalence was ranged between 0.07%-8.5%. about twenty-one studies were done on the general population as the main group or control group. wherein 11 studies blood donors were the sample population two of them were control groups and the range of HCV prevalence in blood donors was (0.2%-3.0%) with the mean of 1.27%. Also, eight studies on the public one of them were the control group and the range of HCV prevalence was (0%-6%) with the mean 2.8%. For the pregnant women, only three studies were done on them one of them as a control group and the prevalence range was 0.07%-8.5% with the mean of the HCV prevalence 3.95%. On the other hand, just one study was done on the children with a prevalence of 2.8% (Table 1).

Intermediate Risk Group

In the intermediate-risk group, three studies were done on the health workers and dental clinic, and public health center cleaners. Where HCV prevalence was ranged between 1.03%-3.5% (Table 2).

High Risk Group

In the high-risk group, about 17 studies were done with a range between 6.4%-62.7%. All these studies are patients but with different diseases. For the hemodialysis patients, 8 studies show us the range between 10.7%-27.6% and the mean 19.8%. And for Hepatocellular carcinoma five studies are found with range 28.4%-43.7% and mean 37.5%. On the other hand, 4 studies had liver disease patients as sample group one is acute liver disease and one chronic liver disease with prevalence ranged between 6.4%-62.7% with the mean 33.3% (Table 3).

Patients Group

Each of the other patients' groups has one study except non-Hodgkin's lymphomas patients which are two studies. The other patients are chronic renal failure, renal failure, non-Hodgkin's lymphomas, leprous, cataract surgery, diabetes, endoscopic, eye camps, sickle cell anemia, surgical department, and clinic visitors. The range of HCV prevalence was between 0%-46%.

DISCUSSION

In our systematic review, it was noted in the last decade that there has been an increase in research activity in hepatitis C, where the number of researches was nearly three times that in the first two decades, and this indicates a high awareness of the seriousness hepatitis C, but most of this research was limited to the city of Sana'a for being the capital of Yemen and a suitable city for researchers to work where it provides a better level of

Table 2. Intermediate risk population group

Authors, References	Year of Sample Collection	Year of Publishing	Type of Study	Sample Size	Prevalence of HCV	Prevalence by Gender	Study Site	Governorate	Population (Workers of)	Test Type
Shidrawi et al. (33)	NA	2004	CS	567	3.50%	NA	Hospital	Sana'a	Healthcare	EIA
Al-Kebsi et al. (34)	2014	2017	CS	509	1.60%	M=1.2%, F=1.9%	Dental clinics	Sana'a	Dental clinic	ELISA
Al-Mamari & Al-Shamahy (35)	2015	2018	CS	388	1.03%	M=0.6%, F = 2.9%	Hospital,health centers	Sana'a	Public health center cleaners	ELISA

*=Confirmed test.

HCV: Hepatitis C virus, ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay, EIA: Enzyme immunoassay, CS: Cross-sectional, F: Female, M: Male,

services than other cities and most of the patients come to it to receive treatment there. On the other hand, we cannot rely on this epidemiological information to give us a correct idea of the prevalence of the hepatitis C virus because most of this research focused on only 12 cities and neglected the rest of the Yemeni governorates. Also, the difference in techniques used in hepatitis C tests may be an influencing factor on the true prevalence of hepatitis C, as there was a difference in the use of techniques in the research conducted on the prevalence rate (60). It was also noted that there were no researches on the incidence of HCV, while all researches were on the prevalence of hepatitis C virus. also, There was not any difference in the HCV prevalence between the gender in Yemen.

The prevalence of HCV was different according to the population group. According to the WHO report 2017 the prevalence of HCV infection in WHO regions vary from 0.5% to 2.3% which indicates that the prevalence in Yemen is high and the Yemeni population is considered at risk of HCV infection. In the general population, the prevalence was less than in Central Asia but it is more than that in the middle east and north Africa MENA (61,62). In the healthy blood donors group, the prevalence in Yemen was close to that in Iraq, but compared to those in gulf countries (Kuwait, Qatar, Saudi Arabia) it was considered to be lower except that in Oman (63). Also, the prevalence of HCV in blood donors in Yemen consider higher than that in Somalia (64). Unfortunately, the prevalence of HCV in pregnant women was higher

Table 3. High risk group population

Authors, References	Year of Sample Collection	Year of Publishing	Type of Study	Sample Size	Prevalence of HCV	Prevalence by Gender	Study Site	Governorate	Population (Patients of)	Test Type
El Guneid et al. (13)	NA	1993	CS	108	21.50%	NA	NA	NA	Acute liver hepatitis	EIA
Gunaid et al. (36)	NA	1997	CS	78	6.40%	NA	Hospital	Aden	Chronic liver disease	ELISA
Al-Mosleh & Al-Huraibi (15)	NA	2001	CS	143	37.10%	NA	Hospital	Aden	Hemodialysis	NA
Al-Selwi et al. (37)	2004-2007	2009	CS	54	27.60%	NA	Hospital	Ibb	Hemodialysis	ELISA
Bin Selm (38)	2007	2010	CS	76	17.90%	NA	Hospital	Sana'a	Hemodialysis	ELISA
Bin Selm (18)	2007	2010	CS	51	62.70%	M=39.2%, F=23.5%	Hospital	Alhudaydah, Raymah, Sa'dah	Hemodialysis	ELISA
Bin Selm (39)	2006-2007	2011	CS	316	43.70%	M=62%, F=12%	Hospital	Aden	Hemodialysis	NA
Saeed et al. (40)	2008-2010	2012	CS	88	28.40%	M=28.1%, F=28.6%	Hospital	Sana'a	Hemodialysis	ELISA, PCR*
Salem et al. (41)	2001- 2008	2012	CS	251	38.20%	NA	Hospital	Dhamar	Hemodialysis	ELISA
Baghza (42)	2010	2014	CS	200	22.50%	M=60%, F=40%	Hospital	Sana'a	Hemodialysis	ELISA
Aman et al. (43)	2000-2013	2015	CS	219	40.20%	NA	Hospital	Sana'a	Hepatocellular carcinoma	ELISA
Al-Haimi et al. (44)	2009-2013	2016	CS	120	54.20%	NA	Hospital	Sana'a	Hepatocellular carcinoma	ELISA
Gaballah et al. (45)	NA	2018	CS	30	16.70%	M=63.3%, F=36.6%	Hospitals	Sana'a, Aden, Hadhramaut	Hepatocellular carcinoma	ELISA
Amran et al. (11)	2018	2019	CC	202	9.90%	M=11.5%, F=15%	Hospital	Sana'a	Hepatocellular carcinoma	ELISA
Hanash et al. (46)	2016	2019	CS	159	10.70%	M=14.3%, F=8.7%	Hospital	Sana'a	Hepatocellular carcinoma	ELISA
Al-Yousofi (47)	2018	2019	CS	349	17.20%	M=9.5%, F=7.7%	Hospital	Sana'a	Liver disease	ELISA
Almezgagi et al. (48)	2013-2016	2020	CS	100	21%	M=14.28%, F=29.54%	Hospital	Taiz	Liver disease	EIA

*= Confirmed test.

HCV: Hepatitis C virus, EIA: Enzyme immunoassay, ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay, PCR: Polymerase chain reaction, CC: Case-control, CS: Cross-sectional, F: Female, M: Male, NA: Not available.

Table 4. Patients population group

Authors, References	Year of Sample Collection	Year of Publishing	Type of Study	Sample Size	Prevalence of HCV	Prevalence by Gender	Study Site	Governorate	Population (Patients of)	Test Type
Denis et al. (49)	1988-1990	1994	CS	1309 (From 7 countries)	7.1% (Yemenis = 21%)	(F = 8.9%, M = 5.5%)	NA	NA	Leprous	EIA, RIBA*
Salem (50)	2005-2007	2009	CS	192	15.10%	M = 17.6%, F = 10.7 %	Hospital	Sana'a	Non-Hodgkin's lymphoma	ELISA
Salem (50)	2005-2007	2009	CS	20329	4%	M = 4.3%, F = 3.5%	Hospital	Sana'a	Other clinics as control	ELISA
Al-Mansoob et al. (51)	2009-2011	2013	CS	394	14.20%	M = 6.8%, F = 7.4%	Hospital	Sana'a	Surgical department	ELISA
Thabet et al. (52)	NA	2014	CS	50	10%	M = 60%, F = 40%	Hospital	NA	Diabetes	ELISA
Al-Hegami et al. (53)	2013-2014	2015	CS	243	46.01%	M = 40.13%, F = 62.5%	Hospital	Aden	Chronic renal failure	ELISA
Al Awfi et al. (54)	2011-2015	2017	CS	278	1.07%	M = 1.18%, F = 0.92%	Blood dialysis center	Alhudaydah	Renal failure	ELISA
Al-Kadasny et al. (55)	2014-2016	2018	CS	121	0%	M = 0%, F = 0%	Hospital	Alhudaydah	Sickle cell anemia	ELISA
Ghanem & Al-Rabeei (56)	2017	2018	CS	1592	1.50%	M = 12.8%, F = 17.9%	Patients	Sana'a	Endoscopic clinic	ELISA, PCR*
Alhaj et al. (57)	2014-2015	2018	CS	144	2.80%	M = 3%, F = 2.2%	Hospital	Sana'a	Non-Hodgkin's lymphoma	CMIA
Al-Shaer et al. (58)	2016-2017	2019	CS	376	1.30%	NA	Patients	Sana'a, Ibb	Eye camps	ICT
Bamashmus & Abdulrahim (59)	2012	2019	CS	1203	4.10%	M = 44.9%, F = 55.1%	Eye hospital	Sana'a	Cataract surgery	ELISA
Al-Hatheq et al. (30)	2018	2019	CS	300	28.00%	NA	Blood banks, hospitals	Amran	Clinic visitors	ICT, ELISA*

*= Confirmed test.

HCV: Hepatitis C virus, EIA: Enzyme immunoassay, RIBA: Recombinant immunoblot assay, ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay, CMIA: Chemiluminescent microparticle immunoassay, ICT: Immune-chromatographic technique, CS: Cross-sectional, F: Female, M: Male, NA: Not available.

than blood donors in Yemen and even that from the pregnant women in Saudi Arabia and Iraq, but compared with that in Egypt it considers lower (63, 65). Besides that, the prevalence of HCV in the Yemensi public is considered higher than that in Lebanon and Iraq (63). On the other hand, the children have only one study for the prevalence of HCV with 2.8% which is higher than that in Somalia, but lower than that in Egyptian children (64,65). The situation in Yemen could be one of the reasons to have a high prevalence in the general population which they suppose to be the health group with a low prevalence.

In the intermediate-risk group in Yemen, the health workers have the highest prevalence of 3.5%, then the dental worker (1.6%), then the cleaners in health facilities (1.03%) where the range of the prevalence in Yemen is close to that of Iraq, but in Iraq, the high prevalence of HCV was high in dental workers group (63). However, the range of HCV in Yemen was higher than in Jordon, and Kuwait, but lower than in Egypt (63,65). This indicates that there is more need for adequate training of working safely for workers in the health facilities in Yemen and regularly test for HCV infection in this group as a control for safety.

In the high-risk group, the range of the prevalence of HCV in Yemen was up to 62.7% which is less than the range of the risk group of Fertile Crescent (63). Where the prevalence of hepatitis C in the hemodialysis group considered higher than the prevalence in the Middle East and African regions (66-68). While it was less than Oman, Kuwait, and Saudi Arabia (69). But the prevalence of HCV in hemodialysis patients is close to that in Lebanon and Palestine (63). Also, it was found that the more number of hemodialysis times the more risk of getting infected with the virus in Yemenis patients (11). This high prevalence in hemodialysis considers the high-risk level of infections in the centers of hemodialysis in Yemenis patients where there are difficulties of controlling the in-

fections because of the poor level of health. In chronic liver disease the prevalence was found only in one study where it is less than Somalia's and United Arab Emirates' prevalence, but in acute liver disease, it was higher than united Arab emirates and less than in Saudi Arabia (64,69).

In the fourth group of patients, the diabetic patients had a prevalence more than that of Kuwait, but less than in Iraq and Egypt (65, 69). Beside in non-Hodgkin patient, the prevalence in Yemenis patients were lower than in Saudi Arabia and Egypt (65,69). But for the hemolytic anemia, there was no relation with the infection of HCV where the prevalence was 0% but in the study in Jordon, it was 40.5% (63). Also, in the other patients, the prevalence of Yemenis patients was higher than Saudi Arabia and lower than Kuwaiti patients (69) we can figure that there is a need for doing tests for HCV for all patients to facilitate the elimination of HCV infections in Yemen.

In conclusion, we can say that there is an increase in the prevalence of hepatitis C in Yemen in all population groups compared to the global prevalence. The reasons for this are due to the current situation in Yemen, including war, and a decline in the level of living, economic, and health. Where there is an urgent need to support the health sector and make periodic checks for all patients who are at risk of getting infected with the virus due to blood transfusion or dialysis, and attention to providing treatment to patients also doing periodic checks for the workers in the health departments. There is also a need to expand the scope of research and pay attention to new research groups and other cities to get a more comprehensive idea of the prevalence of the hepatitis C virus in Yemen. Knowing that awareness and raising awareness of prevention and hygiene methods and the importance of treatment for the disease will help Yemenis to reduce the prevalence and try to keep pace with the World Health Organization's plan to limit the hepatitis C virus infection in 2030.

Ethics statement: *Our systematic review does not require any ethics approval as it relies entirely on previously published data.*

REFERENCES

1. Axley P, Ahmed Z, Ravi S, Singal AK. Hepatitis C Virus and Hepatocellular Carcinoma: A Narrative Review. J Clin Transl Hepatol 2018;6:79-84.
2. Organization WH. Hepatitis C: fact sheet 27 July 2020. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c#:~:text=Key%20facts,major%20cause%20of%20liver%20cancer.
3. Stanaway JD, Flaxman AD, Naghavi M, et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet 2016;388:1081-8.
4. Chemaitelly H, Mahmud S, Mumtaz GR, et al. Hepatitis C virus in the Middle East and North Africa: its epidemiology and the way forward In: Laher I, ed. Handbook of Healthcare in the Arab World. New York, NY: Springer International Publishing; 2019:1-27.
5. Organization WH. Global Hepatitis Report 2017: World Health Organization; 2017.
6. D'Ambrosio R, Degasperi E, Colombo M, Aghemo A. Direct-acting antivirals: the endgame for hepatitis C? Curr Opin Virol 2017;24:31-7.
7. Organization WH. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. Towards ending viral hepatitis. World Health Organization, 2016.
8. Organization WH. Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030: advocacy brief. World Health Organization, 2016.
9. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. J Clin Epidemiol 2009;62:e1-e34.
10. Houghton M. Discovery of the hepatitis C virus. Liver Int 2009;29:82-8.
11. Amran OAA, Al-Shamahy HA, Al Hadad AM, Jaadan BM. Explosion of hepatitis B and C viruses among hemadialysis patients as a result of hemodialysis crisis in Yemen. Universal Journal of Pharmaceutical Research 2019. DOI: 10.22270/ujpr.v4i5.311.
12. Scott DA, Constantine NT, Callahan J, et al. The epidemiology of hepatitis C virus antibody in Yemen. Am J Trop Med Hyg 1992;46:63-8.
13. el Guneid AM, Gunaid AA, O'Neill AM, et al. Prevalence of hepatitis B, C, and D virus markers in Yemeni patients with chronic liver disease. J Med Virol 1993;40:330-3.
14. Gray GC, Kassira EN, Rodier GR, et al. Remote village survey for agents causing hepatosplenic disease in the Republic of Yemen. Trop Doct 1999;29:212-9.
15. Al-Moslih MI, Al-Huraibi MA. Prevalence of hepatitis C virus among patients with liver disease in the Republic of Yemen. East Mediterr Health J 2001;7(4-5):771-8.
16. Sallam TA, Tong CYW, Cuevas LE, et al. Prevalence of blood-borne viral hepatitis in different communities in Yemen. Epidemiol Infect 2003;131(1):771-5.
17. Sultan A, Abdulrahman A, Omar S, Huda S. Short communication the frequency of hepatitis B and C among blood donors: a hospital-based study in Sana'a, Yemen. Biohealth Science Bulletin 2010;2:65-68.
18. Selm SB. Prevalence of hepatitis C virus infection among hemodialysis patients in a single center in Yemen. Saudi J Kidney Dis Transpl 2010;21(6):1165-8.
19. Al-Shamiri AH, Al-Taj MA, Ahmed AS. Prevalence and co-infections of schistosomiasis/hepatitis B and C viruses among school children in an endemic areas in Taiz, Yemen. Asian Pac J Trop Med 2011;4:404-8.
20. Saghir SAM, Al-Hassan FM, Alsalahi OSA, Alhariry A, Baqir HS. Frequencies of HBV, HCV, HIV, and syphilis markers among blood donors: A hospital-based study in Hodeidah, Yemen. Trop J Pharm Res 2012;11:1:52-6.
21. Alodini AQ. Prevalence of hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) infections among blood donors at Al-Thawra Hospital Sana'a City-Yemen. Yemeni J Med Sci 2014;6:16-20.

22. Al-Waleedi AA, Khader YS. Prevalence of hepatitis B and C infections and associated factors among blood donors in Aden City, Yemen. East Mediterr Health J 2012;18:624-9.
23. Gacche RN, Kaid AM. Epidemiology of viral hepatitis B and C infections in ibb city, Yemen. Hepat Mon 2012;12:460-2.
24. Gacche RN, Al-Mohani SK. Seroprevalence and risk factors for hepatitis C virus infection among general population in central region of Yemen. Hepat Res Treat 2012;2012:689726
25. Murad EA, Babiker SM, Gasim GI, et al. Epidemiology of hepatitis B and hepatitis C virus infections in pregnant women in Sana'a, Yemen. BMC Pregnancy Childbirth 2013;13:127.
26. Al-Nabehi BAH, Al-Shamahy H, Saeed WSE, Musa AM, El Hassan AM, Khalil EAG. Sero-molecular epidemiology and risk factors of viral hepatitis in urban Yemen. International Journal of Virology 2015; 11:133-8.
27. Al-Zubiery T, Alharazi T, Alsumairy H, Al-Zubiery A. Sero-prevalence of Hbs Ag, HCV and HIV Among Blood Donors in Three Blood Bank Centers in Sana'a City: Yemen. Journal of Biotechnology and Biomedical Science 2017;1:46-52.
28. Al-Zubiery TK, Alharazi T, Alsumairy H, et al. Sero-prevalence of Anti-HCV among Yemenis blood donors attending national blood transfusion and research centre in Sana'a: Yemen. International Blood Research & Reviews 2017;7:1-6.
29. Al-Kadassy AM, Balkam FA, Bashanfer S. Seroprevalence of Hepatitis B and C Infections among Adult Males in Beit al-Faqih District, Al-Hodeidah Governorate, Republic of Yemen. Journal of Advances in Medicine and Medical Research 2016;19:1-6.
30. Al-Hatheq A, Abakar AD, Al-Ofairi B. Seroprevalence of hepatitis C virus infection among blood donors and clinical visitors in Amran Governorate, Yemen. International Journal of Molecular Microbiology 2019;2:25-33.
31. Ghaleb YA, Alshahari AZ, Ali MA, et al. Prevalence and associated factors with transfusion-transmitted infections among blood donors at the national blood transfusion and research center, Sana'a, Yemen. 2020. DOI: 10.21203/rs.3.rs-116777/v1
32. Barkat B, Naseeb AA. Sero-prevalence and associated factors of viral hepatitis B and C infection among pregnant women in Alaeen Valley, Hadhramout Governorate, Yemen: Al-Razi University; 2020.
33. Shidrawi R, Al-Huraibi MA, Al-Haimi MA, et al. Seroprevalence of markers of viral hepatitis in Yemeni healthcare workers. J Med Virol 2004;73:562-5.
34. Al-Kebsi A, Othman A, Abbas A, et al. Sero-prevalence of hepatitis C virus among dental clinic workers in Sana'a city-Yemen and the risk factors contributing for its infection. Univ J Pharm Res 2017;2:28-33.
35. Al-Marrani WHM, Al-Shamahy HA. Prevalence of HBV and HCV; and their associated risk factors among public health center cleaners at selected Public Health Centers in Sana'a city-Yemen. Journal of Pharmaceutical Research 2018;3:58-62.
36. Gunaid AA, Nasher TM, el-Guneid AM, et al. Acute sporadic hepatitis in the Republic of Yemen. J Med Virol 1997;51:64-6.
37. Al-Selwi AHA, Elezzy Y, Al Ghazali J, Hadi S. Association of hepatocellular carcinoma with hepatic viral markers B and C among Yemenis patients at Althawra Hospital Sana'a. Sudan Medical Journal. 2009;4:237-42.
38. Salem A. Bin Selm , Prevalence of hepatitis B and C viral markers in chronic liver disease patients: a single center experience from Yemen. Arab J Gastroenterol 2010;11:105-7.
39. Bin Selm SA. The seroprevalence of anti-HCV in high-risk dialysis patients. Saudi J Kidney Dis Transpl 2011;22:806-7.
40. Saeed NM, Bawazir AA, Al-Zuraiqi M, et al. Why is hepatocellular carcinoma less attributable to viral hepatitis in Yemen? Asian Pac J Cancer Prev 2012;13:3663-7.
41. Salem A, Abdulrab A, Alfakeh Y, Aown A. Hepatocellular carcinoma in Yemeni patients: a single centre experience over an 8-year period. East Mediterr Health J 2012;18:693-9.
42. Baghza NM. The prevalence of hepatitis C virus among hemodialysis patients in Yemen. J Purity Utility React Environ 2014;3:62-6.
43. Aman K, Al-Dubai SA, Aman R, Hawash A, Alshagga M, Kassim S. Prevalence and associated factors of hepatitis C virus infection among renal disease patients on maintenance hemodialysis in three health centers in Aden, Yemen: a cross sectional study. Saudi J Kidney Dis Transpl 2015;26:380-5.
44. Al-Haimi M, Hamid GA, Ahmed AS. Hepatocellular carcinoma in Yemen: Epidemiology and clinical presentation. World Journal of Pharmaceutical and Medical Research 2018;4:248-53.
45. Gaballah A, Shawky S, Elsawaf G, et al. Virological Profiles of HBV and HCV in Hepatocellular Carcinoma in Egypt and Yemen. Egyptian Journal of Medical Microbiology 2018;27:7-17.
46. Hanash SH, Al-Shamahy HA, Bamshmous MHS. Prevalence and genotyping of hepatitis C virus in hemodialysis patients and evaluation of HCV-core antigen test in screening for dialysis in Sana'a city, Yemen. Universal J Pharm Res 2019;4:14-8.
47. Al-Yousofi MAQ. Prevalence of hepatitis B and C virüs among hemodialysis patient and infection control in dialysis units in Sana'a City, Yemen. Al-Razi University; 2019.
48. Almezgagi M, Edrees W, Al-Shehari W, et al. Prevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus and associated risk factors among hemodialysis patients in Ibb city-Yemen. PSM Microbiol 2020;5:32-40.
49. Denis F, Aussel L, Ranger S, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus among patients with leprosy in several African countries and the Yemen. J Med Virol 1994;43:1-4.
50. Salem AK. Prevalence of HCV among Yemeni patients with non-Hodgkin's lymphoma at Al-Thawra teaching hospital. Gulf J Oncolog 2009(5):22-9.
51. Al-Mansoob AS, Salem AK, A-Selwi A, Assamawi A. Risk factors of hepatitis B and C viruses among patients admitted in surgical departments at Al-Thawra Hospital, Sana'a, Yemen. Sudan Medical Journal 2013;49:168-75.
52. Thabet HM, AL-Souraqy AM, Abbas AH, AL-hogary IQ, Anam EN, Noaman NS. The relationship of Hepatitis C and B with diabetes of Yemeni patients. Asian Pac J Health Sci. 2014;1(4):370-6.
53. Al-Hegami MA, Al-Mamari A, Al-Kadasse AS, et al. Prevalence and risk factors of hepatitis B and hepatitis C virus infections among patients with chronic renal failure in Zabeed city, Yemen Republic. Open Journal of Medical Microbiology 2015;5:136-42.
54. Al Awfi MS, Al-Kamarany MA, Mohsen R, et al. Hepatitis C Virus Infection among Chronic Renal Failure Patients Pre–Dialysis Therapy in Hodiedah City, Yemen. Microbiology Research Journal International. 2017:1-6.
55. Al-kadassy AM, Alkadasi MN, Puttauah E, Naji A, Alhwthyf A. Prevalence of hepatitis B, C and HIV among sickle cell disease patients in Hodeidah city, YEMEN. J Bio Innov 2018;1:114-25.
56. Ghanem YA, Al-Rabeei NA. Prevalence of Hepatitis B and C Viral Infection among Patients Attending to the Endoscopic Clinic at Al-Thowrah Hospital in Sana'a City, Yemen. Global Journal of Gastroenterology & Hepatology. 2018;6:1-4.
57. Nagi A. AL-Haj SMA-A, Khaldoon S. Abdullah, Abdul Baki, Al-Robasi. Prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection among lymphoma patients in Sana'a city, Yemen. Global journal for Research Analysis 2018;7:31-3.
58. Al-Shaer MY, Bamashmus MA, Al-Akily SA, Al-Akhlee HA. Prevalence of hypertension, diabetes mellitus and Hepatitis B and C among people seeking cataract surgery in eye camps in Yemen. Yemeni J Med Health Res. 2019;8:54-61.

59. Bamashmus MA, Abdulrahim AM. Frequency of Hepatitis B, Hepatitis C and Human Immunodeficiency virus in patients undergoing cataract surgery. Hadhramout University Journal of Natural & Applied Sciences 2019;169-15.

60. Singh MN, Lal A, Poddar CK, Ejaz SK. Comparative evaluation of ELISA and rapid screening techniques for the diagnosis of HCV in haemodialysis patients in tertiary care hospital, South Bihar, India. Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences 2017;6:6683-7.

61. Chaabna K, Cheema S, Abraham A, et al. Systematic overview of hepatitis C infection in the Middle East and North Africa. World J Gastroenterol 2018;24:3038-54.

62. Botheju WSP, Zghyer F, Mahmud S, et al. The epidemiology of hepatitis C virus in Central Asia: Systematic review, meta-analyses, and meta-regression analyses. Sci Rep 2019;9:1-15.

63. Chemaitelly H, Chaabna K, Abu-Raddad LJ. The epidemiology of hepatitis C virus in the Fertile Crescent: systematic review and meta-analysis. PloS One 2015;10:e0135281.

64. Hassan-Kadle MA, Osman MS, Ogurtsov PP. Epidemiology of viral hepatitis in Somalia: Systematic review and meta-analysis study. World J Gastroenterol 2018;24:3927-57.

65. Kouyoumjian SP, Chemaitelly H, Abu-Raddad LJ. Characterizing hepatitis C virus epidemiology in Egypt: systematic reviews, meta-analyses, and meta-regressions. Sci Rep 2018;8:1661.

66. Harfouche M, Chemaitelly H, Mahmud S, et al. Epidemiology of hepatitis C virus among hemodialysis patients in the Middle East and North Africa: systematic syntheses, meta-analyses, and meta-regressions. Epidemiol Infect 2017;145:3243-63.

67. Ashkani-Esfahani S, Alavian SM, Salehi-Marzijarani M. Prevalence of hepatitis C virus infection among hemodialysis patients in the Middle-East: A systematic review and meta-analysis. World J Gastroenterol 2017;23:151-66.

68. Jadoul M, Bieber BA, Martin P, et al. Prevalence, incidence, and risk factors for hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. Kidney Int 2019;95:939-47.

69. Mohamoud YA, Riome S, Abu-Raddad LJ. Epidemiology of hepatitis C virus in the Arabian Gulf countries: Systematic review and meta-analysis of prevalence. Int J Infect Dis 2016;46:116-25.