

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

TRANSFUSION TRANSMITTED (TT) VİRUSUN
ANNEDEN ÇOCUĞA GEÇİŞİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. TUĞBA GEZGİN

2006-DENİZLİ

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

TRANSFUSION TRANSMITTED (TT) VİRUSUN
ANNEDEN ÇOCUĞA GEÇİŞİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. TUĞBA GEZGİN

2006-DENİZLİ

İş bu çalışma jürimiz tarafından **KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**' nda **TIPTA UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof.Dr.Babür KALELİ



ÜYE Prof.Dr.Mehmet Emin SOYSAL



ÜYE Prof.Dr.Ö.Levent TUNCAY



ÜYE Doç.Dr.Seyide SOYSAL



ÜYE Doç. Dr. Erkan ALATAŞ



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

21/02/2006

Prof.Dr. Hüseyin BAĞCI
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŐEKKÜR SAYFASI

BaŐta tezimin planlanması, uygulanması, yazılması aŐamalarında ve ihtisas eğitimimde yardımını esirgemeyen tez hocam Prof. Dr. Babür Kaleli'ye, ihtisas süresi boyunca gerek teorik gerek pratik bilgilerini paylaşan ve aktaran hocalarıma teŐekkür ederim.

Mikrobiyoloji bölümü hocalarından Doç. Dr. İlknur Kaleli'ye ve Yrd. Doç. Dr. Melek Demir' e destekleri için teŐekkürü borç bilirim.

İstatistik konusunda yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Beyza Akdağ' a teŐekkür ederim.

Ayrıca tezimin uygulama safhasında yardımlarını esirgemeyen Denizli Devlet Hastanesi Kadın Doğum ekibine çok teŐekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I-GİRİŞ	1
II-GENEL BİLGİLER	2
2.1. TARİHÇE	2
2.2.VİRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ VE GENOM ORGANİZASYONU.....	3
2.3. REPLİKASYON	7
2.4. SINIFLANDIRMA	7
2.5. GENOTİPLER VE GENETİK ÇEŞİTLİLİK	9
2.6. TT VİRUS VE KONAK İLİŞKİSİ	10
2.7. TTV ENFEKSİYONLARININ KLİNİK ÖNEMİ	11
2.8. TT VİRUS ENFEKSİYONLARININ TANISI	12
2.9. EPİDEMİYOLOJİ	13
III-GEREÇ VE YÖNTEM	16
IV-BULGULAR	19
V-TARTIŞMA	23
VI-SONUÇ	27
VII-ÖZET	28
VIII-SUMMARY.....	29
IX-KAYNAKLAR	30

TABLÖLAR ÇİZELGESİ

Tablo-I: PCR’da kullanılan öncüller.

Tablo-II: Annelerin eğitim durumu

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil - 1: TA278 izolatında 3664 ile 15. nükleotid arasında kalan alana ait ikincil yapılanmalar.

Şeki l - 2: TA278 izolatının sirküler genomu.

Şekil - 3: TA278 izolatu ile Chicken anemia virus (CAV) ile karşılaştırılması.

Şekil - 4: TTV ve diğer tek iplikli DNA viruslarının genetik özelliklerinin karşılaştırılması.

Şekil – 5: TA278 izolatında değişken bölgeler.

Şekil - 6: TTV DNA pozitif olan anne serum örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

Şekil - 7: TTV DNA pozitif olan anne serum örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

Şekil - 8: TTV DNA pozitif olan bebek serum örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

Şekil - 9: TTV DNA pozitifliği saptanan vajinal sekresyon örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

GİRİŞ

Hepatitlerin %10 ila %20'sinin sebebi bilinmemektedir (1). Günümüzde hepatit etkeni olarak izlenen viral ajanların klinik tanı ve tedavisinde, duyarlı serolojik ve moleküler yöntemlerin de rutin kullanıma girmesiyle beraber önemli aşamalar kaydedilmiştir. İdiopatik hepatit olgularının bir bölümünün etiolojisinin henüz saptanmamış olması keşfedilmeyi bekleyen bir dizi yeni viral etkenin bulunduğunu düşündürmektedir. Dolayısıyla bu tip hastalarda yeni etkenlerin araştırılması yoluna gidilmektedir.

Şu anki çalışmalar NANE (non – A non - E) hepatitlerden sorumlu yeni bir viral ajanın keşfiyle sonuçlanmıştır. Bu yeni viral ajan, transfusion transmitted virus (TTV)'dur. Bu yeni DNA virusu kriptojenik posttransfüzyon hepatitli hastaların akut faz serumlarında ilk kez izole edildiğinden bu isim verilmiştir (2). Etiolojisi bilinmeyen akut ve kronik karaciğer hastalığı olan hastaların karaciğer dokularında bulunmuştur. Diğer bir yandan, TTV enfeksiyonunun karaciğer hasarına yol açmadığı rapor edilmiştir (3). Çalışmalara göre TTV enfeksiyonunun dünya çapında yaygın olması bu DNA virusunun insanlarda sık olduğunu gösterir. Geniş epidemiyolojik çalışmalar, TTV enfeksiyonunun tanısında güvenilir bir serolojik yöntem olmadığından kısıtlıdır ve viral DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile saptanması tek yöntemdir (4).

Bazı çalışmalar; anneden çocuğa geçişinin sütle ve transplasental olabileceğini ileri sürmüşlerdir (5, 6, 7). Buna karşın diğer çalışmalarda TTV kord kanında saptanamamıştır (8, 9). Halen TTV'nin doğal hikayesi ve patolojik potansiyeli araştırılmaktadır. Çocukların enfeksiyonu erken postnatal dönemde aldığı düşünülür. Yenidoğanlarda TTV DNA 1.5-2 aylıkken gösterilmiştir (6).

Bu çalışmanın amacı; bölgemizde TTV'nin gebelerde taşıyıcılığının saptanması ve anneden çocuğa geçiş yolunun değerlendirilmesidir.

GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

Viral enfeksiyonlar obstetrik alanda çok büyük bir öneme sahiptir. Rubella virus, hepatit B virus (HBV) ve sitomegalovirus gibi virusların teratojeniteleri bu virusların ne kadar büyük öneme sahip olduğunu göstermiştir. Son yıllarda; yeni viruslar keşfedilmiştir ve bunların anne ve fetusa etkilerini içeren çalışmalar dikkat çekmektedir..

Çağımızda 5 virus tipinin Hepatit A, B, C, D ve E virus (HAV, HBV, HCV, HDV ve HEV) hepatite neden olduğu bilinmektedir. Ek olarak 1995'te hepatit G virus (HGV) tanımlanmıştır. HBV ve HCV enfeksiyonunun anneden çocuğa geçişi ve korunma yöntemleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. HBV aşılı ve globulin preparatları kullanımı etkili koruma sağlayarak HBV insidansını dramatik olarak düşürmüştür. Tersine HCV ve yeni keşfedilen HGV enfeksiyonu için anneden çocuğa geçiş insidansı ve etyolojik faktörleri halen bilinmemektedir (10).

Japonya'da 1997 yılının sonlarında yüksek alanin amino transferaz (ALT) enzimine sahip non A non-E etiolojili posttransfüzyon hepatiti olan bir hastada viral bir klon saptanmıştır (2). Lisitsyn ve arkadaşları tarafından tanımlanan 'Representational Difference Analysis' tekniğiyle bu viral klonun 500 bazlık olduğu saptanmıştır. N22 denilen bu klonun nükleotid dizisi 1731752 sekans barındıran Japon DNA veri tabanındaki (DDBJ: DNA Database of Japan) sekansları ile karşılaştırıldığında çok az homoloji gösterdiğinden bu genin daha önceden bilinmeyen bir gen olduğu düşünülmüştür (2, 11).

Bu klon sükröz dansite gradientine tabi tutulduğunda 1.26 g/ml'de bir bant oluşturduğu için viral bir klon olduğuna karar verilmiştir. Bu virusa ilk olgunun adının ilk harfleri olan TT virus adı verilmiştir. Daha sonra bu kısaltma virusun

kan transfüzyonuyla geçtiğinin belirlenmesi üzerine ‘Transfusion Transmitted’ (kan nakli ile geçen) olarak açılmıştır (2).

N22 dizesinden yola çıkarak hazırlanan öncüllerle alanin amino transferaz (ALT) düzeyi artmış, kan nakli sonrası non-A non- G hepatit olmuş 5 hastanın 3 tanesinin serumunda belirlenmiştir (2). Bu virusun tüm genomunu ortaya çıkarmak için yapılan ilk çalışmada, N22 klonunun saptandığı hasta serumundaki virusun 3739 bazlık kısmı ortaya çıkarılabilmektedir (TA 278) ve genomun lineer olduğu düşünülmüştür (12).

TTV bugüne kadar elektron mikroskopla gösterilememiştir.

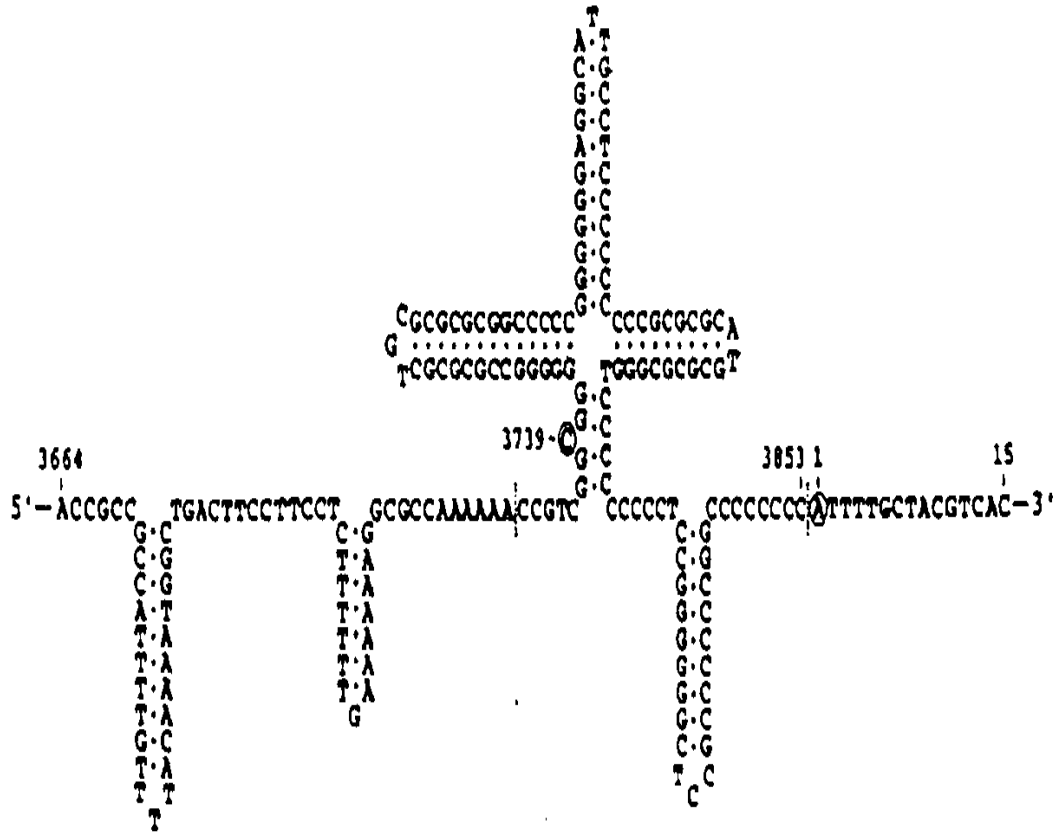
2.2. VIRUSUN GENEL ÖZELLİKLERİ VE GENOM ORGANİZASYONU

TTV ile yapılan ilk çalışmalar parvoviruslere benzer olarak lineer DNA’ya sahip olduğu söylenmiştir.Yapılan çalışmalarda, Sezyum Klorür (CsCl)’de yüzme yoğunluğunun (1.31-1.34 g/ml) ve filtrasyonla belirlenen 30-50 nm’lik (nanometre) parçacık boyutu olduğu saptanmıştır. Bundan dolayı parvoviruslara benzemediği belirlenmiştir. Miyata ve arkadaşlarının 1999 yılında yayınlanan çalışmasında, TTV’nin guanin (G) ve sitozinden (C) zengin 113 nükleotidden oluşan bölge taşıdığı (şekil - 1) ve bu bölgenin dairesel DNA’yı tamamladığı gösterilmiştir (şekil - 2) (13, 14). Ekip dairesel DNA’yı göstermek için ilkönce ticari ‘long-PCR’ kiti kullanmış fakat bunda başarısız olmuşlardır. Daha sonra kendilerinin oluşturdukları nested long-PCR sistemini kullanarak inverted PCR ile yeni bölgeyi çoğaltmayı başarmışlardır.

Serumda bulunan viral partiküller, tek sarmal DNA’ya etkili Mung bean nükleaz ile parçalanırken, çift sarmal DNA’ya etkili Neisseria denitrificans’tan elde edilen enzim olan Nde I’den etkilenmemelerinden dolayı tek sarmallı DNA genomu içerdikleri ortaya konmuştur.Yapılan DNA/RNA hibridizasyon deneyleri sonucu negatif polariteli olduğu anlaşılmıştır. Virusün süroz dansite gradienti ile

saptanan yoğunluğunun %5'lik Tween 80 ile işlemeden sonra değişmemesi, zarfının olmadığını ortaya koymuştur (15).

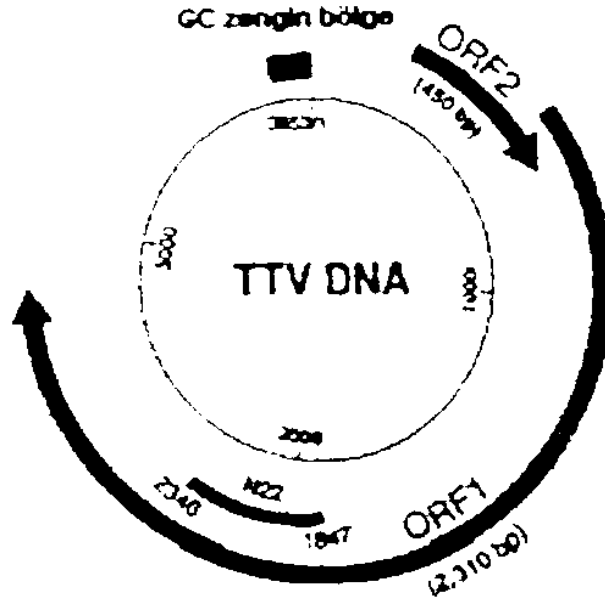
Genomun yaklaşık 3800 nükleotidden oluştuğu ortaya konmuştur. İnsandan izole edilen ilk tek iplikli çembersel DNA virusu olma özelliğine sahip olan TTV'nin 2600 nükleotidlik kısmı protein kodlayan bölgeyi, kalan 1200 nükleotidlik kısım ise transle edilmeyen bölge (untranslated region: UTR)'yi meydana getirmektedir (16, 17, 18).



Şekil – 1: TA278 izolatında 3664 ile 15. nükleotid arasında kalan alana ait ikincil yapılanmalar

Dikey kesik çizgiler arasında kalan alan (3739 - 3853); guanin ve sitozin (GC) zengin bölge. Daire içine alınan nükleotidler ilk denemeler sonucu sekanslanamamış bölgeler. (Okamoto ve arkadaşlarının çalışmasından alınmıştır.)

TTV iki adet büyük (202 ve 770 aminoasitlik (aa)) ve birkaç adette ORF kodlar. Circoviruslar 'rolling circle' replikasyonunda 'replication associated protein' (rep) yapılır. Rep dörtten fazla aa sekans motifine sahiptir. Motiflerden 1 ve 3 TTV - GH1 izolatının ORF1'inde saptanmıştır. Şimdiye kadar olan çalışmalar; 6 farklı izolatın tüm DNA dizisini ortaya çıkartabilmiştir. Bunlar sırasıyla TA278, GH1, TUS01, SANBAN, TJN01 ve TJN02 izolatlarıdır. Bu çalışmalarda kodlanan bölgelerde farklılık gösteren bölgeler ve kodlanmayan bölgelerde korunmuş bölgeler olduğu gösterilmiştir (13, 14, 17, 19-21).



Şekil – 2: TA278 izolatının sirküler genomu.

Açık okuma çerçeveleri, N22 klonunun yer aldığı alan, guanin ve sitozinden (GC) zengin bölge (3736 - 3852).

İzolatlarda saptanan ORF'ler; TATA kutusu ve poliadenilasyon sinyali arasına yerleşmiştir. GC zengin bölge kodlanmayan bölgenin (UTR) ortasındadır. Tüm genomu ortaya çıkartılmış izolatlar içinde ORF1, 745 - 770 aa arasında değişen sayıda aminoasit kodlar. Tüm izolatların ORF1'lerinde görülen bir diğer

ortak özellik başlangıç metyonin kodonudur. Poliadenilasyon sinyali tüm TTV zincirlerinde korunmuş olan tek dizidir (17).

Virus, insan mononükleer hücre kültüründe üretilmiştir (22).

Takahashi ve arkadaşları tarafından 2000 yılında ortaya çıkartılmış olan TLMV (TTV Like Mini Virus) TTV ile CAV 'ünün filogenetik olarak arasında bir form olduğu düşünülmektedir. Bu virus grubu negatif polariteli, tek sarmallı ve çembersel bir DNA genomuna sahiptir. Virion büyüklüğü, sezyum-klorit dansitesi ve ORF yerleşimleri açısından da TTV ile benzeşen TLMV'ler genom büyüklüğü açısından belirgin olarak küçüktürler. Kodlamaya katılmayan alanlar TTV ile TLMV'de yüksek düzeyde benzerlik gösterir. TLMV'ün 3 farklı izolatu saptanmıştır. Genomun uzunluğu 2765 - 2952 nükleotid arasında değişmektedir. Ancak TLMV hakkındaki bilgiler çok yetersizdir (15, 21, 23, 24, 25).

TTV'nin göstermiş olduğu genetik heterojenitenin nedeni henüz bulunamamıştır. TTV'nin replikasyonu sırasında bir ters transkripsiyon söz konusu olabilir. Çift zincir DNA virusü 'reverse transkriptaz' kodluyor olabilir. Ancak bununla ilgili dizi motifi henüz bulunamamıştır. Kronik enfeksiyonlu hastalarda; çok değişkenli bölgelerinde (HVR) dizi farklılığı gösteren TTV, dolaşımda 'quasispecies (genomik heterojenite)' şeklindedir.

TTV'nin çok değişkenli bölgelerindeki varyasyonlar konağın immun sisteminden kaçmasını sağlamaktadır. HVR'ye karşı oluşan humoral antikorlar dolaşımda bulunabilir. Kronik TTV enfeksiyonlu hastalarda TTV partikülleri goat - antihuman IgG ile çöktürülebilmektedir bu da dolaşımda immun kompleksleri oluşturduklarına bir işarettir. Bunun tersine akut enfeksiyonlu hastalarda serbest olan TTV partikülleri IgG ile kompleks oluşturmadıkları görülmüştür (26).

TT virusun ko-enfeksiyon oluşturabilme yeteneği rekombinasyon olasılığını düşündürmüştür. Brezilya'da yürütülen bir çalışmada, bir sağlık çalışanının 11 farklı TT virus izolatıyla enfekte olduğunu ortaya konmuştur (27, 28).

2.3. REPLİKASYON

TT virusun replikasyonu bilinmemektedir. Circoviruslar yuvarlanan çember (rolling circle) mekanizmasını kullanarak replike olurlar. Genomik yapıları en çok bu virus ailesine benzediğinden onlar gibi replike oldukları düşünülmektedir (29, 30).

2.4. SINIFLANDIRMA

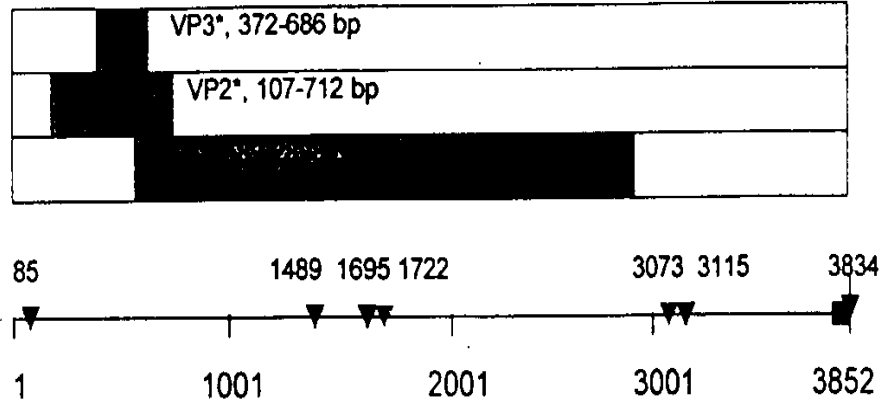
TT virus circoviruslar gibi çembersel, tek sarmallı DNA viruslarıdır. TTV bu familya üyelerinden daha büyük bir genoma ve viral partiküllere sahiptir. Circovirus ailesi içinde insanları infekte eden viruslar bulunmamaktadır; üzerinde en çok çalışılan tavuk anemi virusu (CAV; Chicken Anemia Virus) ve porcine circovirusleridir. Porcine circovirusun daha çok bitkileri enfekte ettiği gösterilmiştir (31, 32). (Şekil - 3)

TTV kesin olarak bilinen bir virus ailesi içinde sınıflandırılmamış olup, araştırmacılar latince çembersel anlamına gelen 'circinatio' kelimesinden türetilen 'circinoviridae' adı altında yeni bir virus sınıfı olarak sınıflandırmayı önermişlerdir. (Şekil - 4)

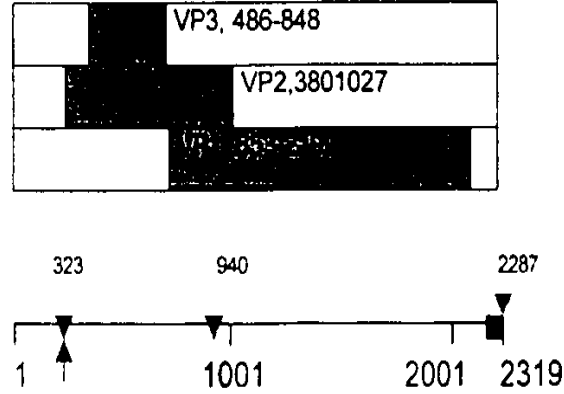
TTV TA278 izolatu CAV ile karşılaştırıldığında her ikisinde oransal büyüklükleri ve yerleşimleri benzer 3 adet okuma çerçevesi olduğu fark edilmektedir. TTV'nin genomik organizasyonu CAV'e benzer. ORF1; CAV'nin VP1'ine eşit protein kodlar. Bu protein amino uçta ilk 100 aminoasitte çok fazla miktarda arjinin içerir (15). Bu bölge CAV'nün N ucuna benzer. Benzer hidrofobik alanlar diğer viruslerin kor proteininde de bulunmuştur. ORF ürünü birkaç potansiyel asparajin bağlı glikolizasyon bölgesi içerir ve izolatlarda bu bölgeler sayı, lokalizasyon olarak değişir. Hijikata ve arkadaşları glikolizasyon paternindeki farklılıklar proteinin çeşitli özelliklerini ve antijenik spesifitesini etkiler. UTR'de çok sayıda inverte tekrarlamalar içerir ve kök - ilmik (stem - loop) oluşturma potansiyeli vardır. Poliadenilasyon bölgesinde diğer bir kök-

ilmik tanımlanmıştır. Kök - ilmik oluşturmak için baz çiftleriyle kovaryant mutasyonlar gerekir. Benzer sekonder yapılar CAV ve diğer circoviruslarda vardır.

TTV

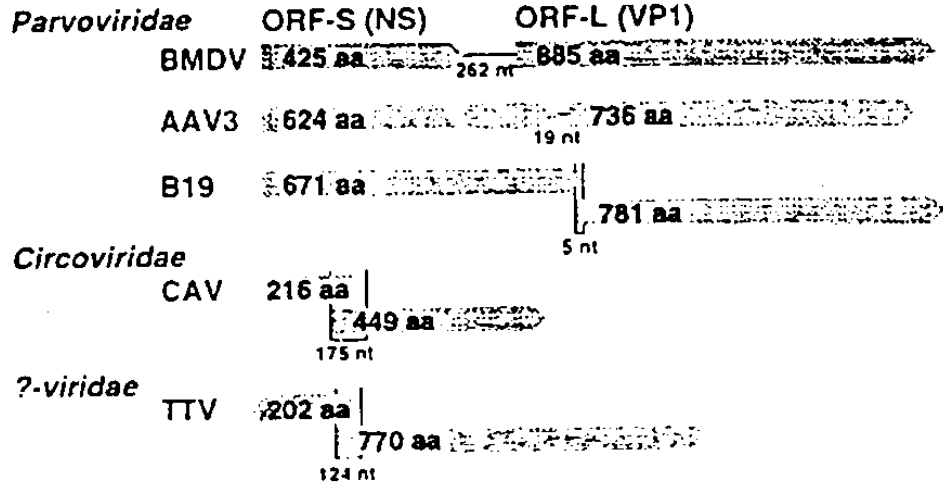


CAV



Şekil - 3: TA278 izolatu ile Chicken anemia virus (CAV) ile karşılaştırılması.

Viral proteinleri (VP) kodlayan bölgelerin yerleşimleri benzerlik göstermektedir.

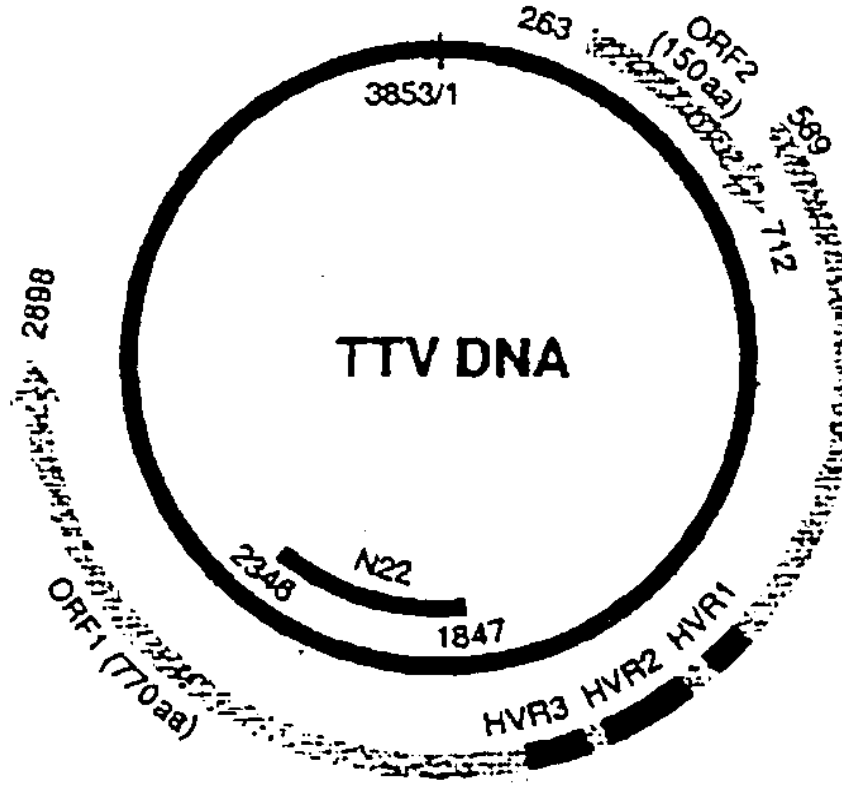


Şekil - 4: TTV ve diğer tek iplikli DNA viruslarının genetik özelliklerinin karşılaştırılması.

ORF-S (NS) Parvovirusların yapısal olmayan proteinlerini, ORF - L kılıf proteinlerini göstermektedir. TTV, CAV ve B19'da iki ORF arasındaki nükleotidler üstüste binmişken, BMVD ve AAV3'te ORF'ler üstüste binmez.

2.5. GENOTİPLER VE GENETİK ÇEŞİTLİLİK

Tanımlanan sekans sayısı arttıkça genotip sayısı da artmaktadır. 2001 yılında yapılan bir çalışmada 28 farklı genotip tanımlanmıştır (33). Birinci açık okuma çerçevesinde, 3 adet çok değişken bölge (HRV: hypervariable region) tanımlanmıştır.



Şekil – 5: TA278 izolatında değişken bölgeler.

1. açık okuma çerçevesi üzerinde koyu renklerle belirtilen 3 çok değişken bölge bulunmaktadır. (Şekil Nishizawa ve arkadaşlarının çalışmasından alınmıştır.)

Primatlardan elde edilen TTV izolatlarının insanda saptanmış izolatlardan farklı olduğu bootstrap analizi ile desteklenmiştir. Bu yeni viruse Simian TTV (s - TTV) denilmiştir. Batı Afrika’da şempanzeler arasında oldukça yaygın olduğu gösterilmiştir. İnsanlardan, şempanze ve maymunlardan soyutlanan virüslerden 5’ NCR bölgelerine ait sekanslarla oluşturulan filogenetik ağaçta insan izolatlarının diğer izolatlardan farklı bir grup oluşturdukları görülmektedir (34).

2.6. TT VİRUS VE KONAK İLİŞKİSİ

TTV enfeksiyonu konakçıdan zamanla temizlenmektedir. Hangi mekanizmayla temizlendiği bilinmemektedir. Konakçı veya virüsle ilgili özellikler veya her ikisinin kombinasyonu etkili olabilir. Çalışmalarda TTV DNA

negatif hastalarda vireminin tekrar ortaya çıkmasını gözlenmemiştir. Deneysel olarak enfekte edilen şempanzeler; virus taşıyıcılığı aylar sonra ortadan kalkmıştır. Okamoto ve arkadaşları diğer tek zincirli DNA viruslarında olduğu gibi TTV DNA'sının epizom gibi davranabileceğini ve konakçının DNA'sına entegre olabileceğini önermişlerdir. Bu konuda hepatoselüler ve hematopoetik malignansili hastalarda yapılan çalışmada TTV'nin entegre olmadığı görülmüştür (35, 36).

TTV'nin vücuda girmesinden sonra hangi hücre tipinde çoğaldığı ve yeni virusların hangi dokulardan salındığı bilinmemektedir. Plazma ve fekal örneklerle karşılaştırıldığında TTV DNA karaciğer dokusu ve safra örneklerinde 10 ila 100 kat fazla bulunmuştur (20, 37 - 39).

Bir çalışmada TTV DNA negatif annelerin tükürüklerinde TTV DNA saptanmıştır. Bunun nedeni bilinmemektedir. Tükürük örneklerinde serum örneklerine göre 10 ila 1000 kat fazla virus bulunmaktadır (40, 41). Çift zincirli DNA'lar (replikatif - intermediat form) kemik iliği ve karaciğer hücrelerinde saptanmıştır (42). Aynı kişide; periferik kan mononükleer hücrelerinde ve plazmada genotipler farklılık gösterebilir (43). TTV DNA genotipinin serumda değilse, periferik kan mononükleer hücrelerinde gösterilmesi, miks TTV enfeksiyonunun görülmesini artırır (15).

Çalışmalarda, TTV enfeksiyonunun bazı vakalarda geçici olduğu fakat sıklıkla sebat etmekte olduğunu gösterilmiştir. TTV'nin kronik taşıyıcılığının olması kan verici popülasyonda viremik şahısların yüksek prevalansını ile açıklanabilir. Talesemik hastalarda TTV prevalansı yüksek bulunmuştur.

2.7. TTV ENFEKSİYONLARININ KLİNİK ÖNEMİ

TTV enfeksiyonu ister geçici ister kronik olsun tüm hastalarda klinik olarak benign olduğu gösterilmiştir. Doğal ve deneysel yolla TT virus ile enfekte edilen şempanzelerde, hepatitin histolojik veya biyokimyasal bulgularına

rastlanılmaması, bu enfeksiyon büyük çoğunluğunun hepatitle sonuçlanmadığını düşündürmektedir. Birden fazla transfüzyon yapılan populasyonda hafif ALT yükselmeleri nonspesifik kabul edilebileceği önerilmiştir. TTV DNA varlığı veya miktarı; ALT düzeyleri ile alakalı değildir. Enfeksiyon HIV'la enfekte kişilerde fazladır. HIV enfeksiyonu; enfeksiyona hassasiyet, re-enfeksiyon, veya erişkin dönemde persiste etmesinin sıklığını artırır. AntiHAV pozitif olan kadınlarda TTV DNA seroprevelansı fazladır (44). HBV ve HCV taşıyıcılığı olan gebelerde TTV pozitifliği daha fazladır.

Akut gastroenteriti olan çocuklarda, TTV enfeksiyonu daha sık görülmektedir. Diabetes mellituslu hastalarda, viremi prevelansı fazladır. Kawasaki sendromu ve multipl skleroz ile arasında bir bağlantı bildirilmemiştir. Virus santral sistemi ile ilgili hastalıklarda saptanamamıştır. Psöriazis, romatoid artrit, sistemik lupus eritamatozisli hastalarda TTV enfeksiyon oranlarının diğer muhtelif hastalıkları olanlardan daha yüksek olmadığı bulunmuştur. Bir başka çalışmada romatoid artritli TTV pozitif hastalarda; romatoid faktör pozitifliğinin büyük oranda arttığı görülmüştür. Bazı çalışmalarda, TTV'nin insanın normal mikroflorasının bir parçası olduğu önerilmiştir. (15, 45).

2.8. TT VİRUS ENFEKSİYONUNUN TANISI

TTV enfeksiyonunun laboratuvar tanısı çeşitli nedenlerden dolayı hala açık değildir. Virus tarafından sağlanan immun cevap çok iyi anlaşılmamıştır. Rahat kullanılan bir serolojik metod yoktur. Viroloji laboratuvarında antiviral antikorların klinik kullanımı bilinmemektedir. Viremi çok önemli olmasına rağmen plazmada viral antijeni saptayan herhangi bir metod rapor edilmemiştir. Viral DNA'yı gösteren PCR formatlarının hiçbirisi TTV varyantlarının bütün spektrumunu saptamada yeterli olmamıştır. Genetik heterojenite nedeniyle kullanılacak öncüller için hedef bölgenin seçimi, testin duyarlılığını belirgin olarak etkilemektedir. Kodlamaya uğramayan kısmın izolatlar arasında daha iyi korunduğunun anlaşılmasıyla, bu bölgeye yönelik primerler tasarlanmıştır.

Circoviruslarda olduğu gibi, belli genotipler belli patolojilerle ilişkili olabileceğinden; varlığını saptamak için pratik yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Tanaka ve arkadaşları 6 genotipi birbirinden ayırabilecek, restriction fragment length polymorphism (RFLP) reaksiyonunu tasarlamışlardır (46, 47).

2.9. EPİDEMİYOLOJİ

TTV viremişi genel populusyonda çok sıktır. Japonya'da kan verenlerde %12 saptanmıştır. Fakat bir çalışmada Japonya'da NC bölgesine ait primerler kullanılarak genel populusyonda prevalansı %92 olarak saptanmıştır. Bunun nedeni virusu saptamakta kullanılan primerlerin farklılıklarıydı. Sağlıklı çocuklarda TTV yaygındır ve sıklığı %17 ile %100 arasında rapor edilmiştir (6).

Kan miktarı ile veya kan faktörleri alan kişiler ile TTV prevalansı arasında pozitif korelasyon vardır (48 – 52). Kan alanlarda, talasemi hastalarında, uzun dönemli hemodiyaliz hastalarında, hemofilisi olan hastalarda ve intravenöz ilaç bağımlılarında sık olarak saptanmıştır (53 – 56). Virus servikal sürüntü örneklerinde, tükürükte, semende ve anne sütünde saptanmıştır. Bu durum araştırıcıları fekal-oral ve parenteral geçişden başka insan olmayan enfeksiyon kaynaklarının varlığını araştırmaya itmiştir. Evcil çiftlik hayvanlarının serumu çalışılmış; domuzların %20'si, ineklerin %25'i, tavukların %19'u ve koyunların %30'u TTV DNA'sı açısından pozitif bulunmuştur (57). Viremik kişilerin feçeslerinde TTV bulunur. Virus doku kültürlerinde ve insan olmayan primatlarda enfeksiyözdür. Sonuç olarak, virus en sık fekal-oral yol ile geçmektedir.

Genotip 1 ve 2 dünya çapında yaygındır (58). Genotip 4, 5, 6 başlıca Asya'da saptanmıştır. DNA viruslarının tersine izole edilen TT virusları yüksek derecede genetik heterojenite gösterirler (10).

Bazı çalışmalarda akut, kronik hepatit ve hepatosellüler karsinom ile TTV enfeksiyonunun ilişkili olduğu önerilmiştir (59 – 61). TTV genotiplerinin virulans

ve patojenite açısından birbirlerinden farklılıkları konusunda henüz yeterli veri elde edilememiştir. Genotip 1 en patojeniktir ve diğer genotiplerle karşılaştırıldığında hepatik hasar yapma olasılığı fazladır (62, 63).

Gözlemler şunu göstermiştir.

1-TTV DNA ticari insan plazmalarında, pıhtılaşma faktör konsantrantlarında ve intramuskuler immünglobulin preparatlarında saptanmıştır.

2-Çeşitli çalışmalarda, hepatit B ve C enfeksiyonu olan hastalarda, kontrol gruptakilere göre TTV enfeksiyonu daha sık görülmüştür.

3-Parenteral geçiş açısından risk altında bulunan gruplarda, çeşitli TTV tipleriyle enfeksiyon sıklıkla görülmüştür (15, 64, 65).

Arslan ve arkadaşları 2000 yılında Ankara'da yaptıkları bir çalışmada 80 hemodiyaliz hastasının %8.4'ünde, Mıstık ve arkadaşları ise 2000 yılında Bursa'da yaptıkları bir çalışmada 55 hemodiyaliz hastasının %55'inde TTV DNA pozitifliği bulmuşlardır. Gülsoy ve arkadaşları; 2001 yılında, İstanbul'da, sağlıklı ve HBV yada HCV ko-enfeksiyonlu kan donörlerinde TTV DNA varlığını araştırmışlar, HBV ve HCV enfeksiyonları ile TTV pozitifliği arasında belirgin bir ilişki bulmuşlardır. Bu araştırmacılar; HBV ve HCV ko-enfeksiyonlu olanlarda, tek başına HBV veya HCV taşıyıcılarında TTV pozitifliğinin anlamlı bulduklarını da bildirmektedirler. TTV enfeksiyonu HIV (human immunodeficiency virus)'la enfekte kişilerde daha sık saptanmaktadır (66). Sağlıklı kan donörlerine ilişkin bildirilen TTV DNA seroprevelans oranları geniş bir aralıkta yer almaktadır; Fransa'dan %2, Almanya'dan %7, İspanya'dan %14 ve ABD'nden %13 gibi oranlar rapor edilmiştir (67).

Akut TTV enfeksiyonu için IgM antiTTV kullanılabilir. IgG antiTTV geçirilmiş enfeksiyonu gösterir ve aynı genotiple reküren enfeksiyonu engeller. IFN - α (interferon alfa) tedavisi TTV ve HCV ile enfekte bazı hastalarda TTV'yi

azaltabilir veya iyileştirebilir. Aynı çalışmada; IFN - α ile TTV sekansı ve hassasiyeti arasında bir ilişki olabileceği önerilmiştir (68).

Hayatın ilk aylarında TTV enfeksiyonunun sık olduğunu bulunmuştur. Fakat bazı çalışmalarda vireminin yaşla birlikte arttığı, erişkinlerde ve hayatın son dönemlerinde en sık olduğu gösterilmiştir (68 – 71). TTV prevelansının yaşla birlikte artması, parenteral olmayan bir yolla geçtiğini gösterir. Fakat, doğumdan hemen sonra TTV'nin PCR ile saptanması, intrauterin geçiş olduğunu göstermiştir. 3 ay ve üstü infantlarda TTV'nin geçiş yolunun, çevresel kaynaklarla olduğu bildirilmiştir. (8, 72).

TTV enfeksiyonu gebelerde ve lohusalarda gebe olmayan sağlıklı kadınlara göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Virusun anneden çocucağına geçiş şekli araştırılmış ve çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Çeşitli çalışmalar kordon kanında veya doğumdan bir hafta sonraki kanda TTV DNA olmadığını göstermişlerdir (9, 73). Tersine bazı çalışmalar kordon kanı örneklerinde TTV DNA saptamışlardır. İnfantlarda TTV enfeksiyonu ile doğum şekli arasında bir korelasyon görülemediği. Bazı çalışmalarda; anne sütüyle beslenen infantlarla TTV arasında korelasyon görülemediği. Hatta bazı çalışmalarda sütle beslenme başlamadan önce TTV saptanmıştır.

TTV'nin klinik önemi hala anlaşılmalıdır. TTV viremili infantlarda, karaciğer hasarı ile uyumlu biyokimyasal bulgu görülemediği. Bu TTV viremili sağlıklı kan vericilerinde virusun sık olduğu gerçeğini ortaya çıkarır (74).

HGV koenfeksiyonu, TTV enfeksiyonunun epidemiolojik özelliklerini etkilemez. Çalışmalarda enfekte infantlarda, hafif veya geçici ALT yükselmeleri olmuştur, bu da karaciğere zararlı olmadığını gösterir. Bazı çalışmalarda, HCV enfeksiyonu ile TTV viremi arasında korelasyon görülemediği (74).

GEREÇ VE YÖNTEM

ÇALIŞMA GRUBU

Pamukkale Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde ve Denizli Devlet Hastanesinde; Aralık 2004 - Temmuz 2005 tarihleri arasında doğum yapan 120 gebe çalışmaya dahil edildi. Yüzyirmi annenin; kan, vajinal sekresyon ve süt örnekleri, kordon kan örnekleri ve bebekleri 3 aylık olduğunda kan örnekleri alındı. Kan örnekleri santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Süt örnekleri steril cam tüplere konuldu. Vajinal sekresyon örnekleri steril pamuklu çubukla alınarak steril fosfat tamponlu solüsyona konuldu. Bütün örnekler –85 °C’de çalışma yapılana kadar saklandı. Bütün hastalardan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı. Çalışma için Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik kurulu onayı alındı. Çalışma Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışma kapsamına giren bütün annelerin kanları antiHAV, HBsAg, antiHBs, antiHCV, antiHIV testleri kemolumünüsans yöntemi (biorad access) kullanılarak çalışıldı.

Çalışmada kullanılan cihazlar:

- 1-Mikropipet set
- 2-Mikrosantrifüj
- 3-Vortex
- 4-0,2 ml blok ısıtıcı kapaklı termal döngü cihazı
- 5-Kuru ısıtıcı blok
- 6-Yatay jel elektroforez sistemi
- 7-UV translüminatör

Çalışmada kullanılan kimyasal malzeme ve tamponlar:

- 1-Agaroz
- 2-DNA moleküler ağırlık markırı
- 3-Jel yükleme boyası

4- Etidyum bromid

5-TBE tamponu

Tüm kimyasallar uygun koşullarda saklandı.

DNA SAFLAŞTIRILMASI

Gebelerin serum, vajinal sekresyon örneklerinden, doğumlarında kordon kanından elde edilen serum örneklerinden, doğumdan sonra annelerin süt ve bebeklerinin serum örneklerinden DNA ekstraksiyonu test kitinin öngördüğü biçimde yapıldı. DNA ekstraksiyonunda Heliosis DNA ekstraksiyon modülü kullanıldı (A101-Metis). DNA saflaştırılması aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Örnekler; kapakları açılmadan önce spin santrifüj kullanılarak santrifüj edildi. 400 µl DNA lysis binding solüsyon, 20 µl proteinaz-K ve 100 µl serum eklenip vortekslendi. Karışım 65 °C'de 10 dakika ve +4 °C'de 2 dakika bekletildi. Spin santrifüj ile santrifüj edildikten sonra üzerine 500 µl DNA presipitasyon solüsyonu eklenip vortekslendi. Onbeş dakika 13000 rpm'de santrifüj edildi. Üst kısım; çöken kısma dokunmadan mikropipetle alındı. 500 µl DNA yıkama solüsyonu eklenip vortekslendi. 5 dakika 13000 rpm'de santrifüj edildi. Üst kısım alınıp 10 dakika oda sıcaklığında kurutuldu. 20 µl DNA sample diluter eklenildi, vortekslendi ve daha sonra spin santrifüj ile santrifüj edildi. Hemen kullanılmayacak örnekler -20 °C'de saklandı.

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

TTV genomun ORF1 bölgesinin çoğaltılması için semi-nested yöntemi, uygun primerler kullanılarak yapıldı. Birinci tur PCR reaksiyonunda; her bir örnek için tüpe 45 µl TTV1 amplifikasyon miks ve Taq DNA polimeraz 0.2 µl miktarlarında konarak hazırlandı, hafif vortekslendi ve santrifüj edildi. Hazırlanan bu amplifikasyon karışımı PCR tüplerine 45 µl dağıtıldı. Her PCR tüpünün üzerine çalışılacak DNA örneğinden 5 µl eklendi. Isı döngü cihazında;

94°C'de 5 dakika --- 1 döngü
94°C'de 20 saniye }
55°C'de 45 saniye } 25 döngü
72°C'de 60 saniye }

72°C'de 5 dakika --- 1 döngü çalışıldı.

İkinci tur PCR reaksiyonu için; amplifikasyon karışımı her bir örnek için 48 µl TTV2 amplifikasyon miks ve Taq DNA polimeraz 0.2 µl miktarlarında konarak hazırlandı, hafif vortekslendi ve santrifüj edildi. Bu hazırlanan karışım PCR tüplerine 48 µl dağıtıldı. Her PCR tüpünün üzerine çalışılacak 1. tur PCR ürününden 2 µl eklendi. Aynı program bu kez,

94°C'de 2 dakika --- 1 döngü
94°C'de 20 saniye }
55°C'de 35 saniye } 30 döngü
72°C'de 45 saniye }

72°C'de 5 dakika --- 1 döngü şeklinde çalışıldı. Amplifikasyon ürünleri etidyum bromid içeren %2 agaroz jel elektroforez sonrası U.V. transillüminatörde 243 baz çifti büyüklüğünde band aranarak pozitif ve negatif kontroller ile birlikte analiz edildi. Ayrıca, değerlendirmede 100 baz çift (bç)'lik marker (Fermantas, Litvanya) kullanıldı.

Tablo-I: PCR'da kullanılan öncüller.

öncül	polarite	dizi	Pozisyon
Birinci PZT			
F1	sense	5'-gtgggactttcacttgctcggtgc-3'	3087 - 3110
R1	antisense	5'-gacaaatggcaagaagataaaggcc-3'	3392 - 3368
İkinci PZT			
F2	sense	5'-aggtcactaagcactccgagcg-3'	3120 - 3141
R2	antisense	5'-gcgaagtctggccccactcac-3'	3362 - 3342

Bu çalışmanın istatistiksel analizinde ki - kare testi kullanıldı, p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Pamukkale Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde ve Denizli Devlet Hastanesinde; Aralık 2004 - Temmuz 2005 tarihleri arasında doğum yapan 120 gebe çalışma kapsamına alındı. İki annenin örneği kontamine olduğu için çalışılmadı. Yüzonsekiz annenin yaş aralığı 19 - 40 olarak bulundu (ortalama 25.482 ± 4.74). Annelerin 10'u (%8.5) hiç eğitim almamışken, 6 anne (%5.1) yüksekokul üniversite mezunu olarak bulundu. Çalışmaya alınan annelerin eğitim durumları Tablo II'de özetlenmiştir. Serumunda TTV DNA pozitif olan annelerin %8.3' ü (n=1) hiç eğitim almamış, %33.3'ü (n=4) ilkokul mezunu, %33.3'ü (n=4) ortaokul mezunu, %16.7'si (n=2) lise mezunu, %8.3'ü (n=1) yüksekokul üniversite mezunu olarak bulunmuştur. Eğitim durumu ile serumunda TTV DNA pozitif olan anneler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$).

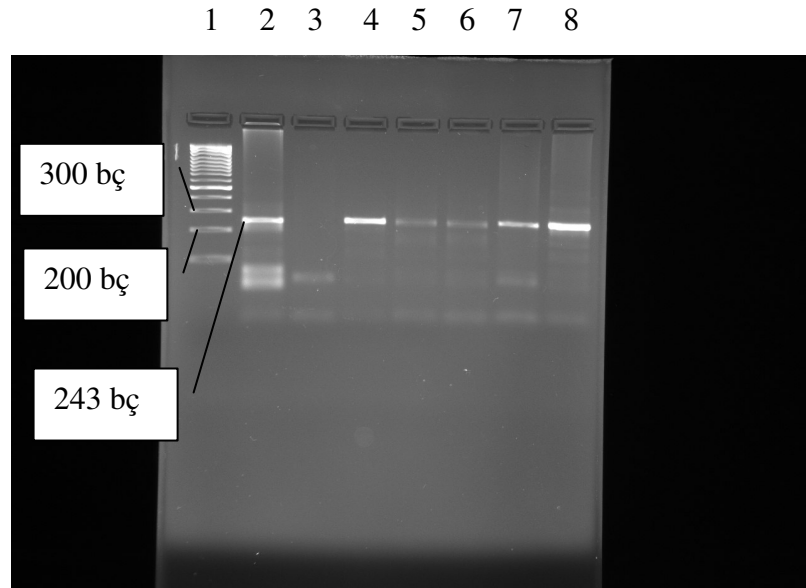
Tablo II:Annelerin eğitim durumu

Mezun olunan okul	Sayı	%
Eğitimsiz	10	8.5
İlkokul	47	39.8
Ortaokul	31	26.3
Lise	24	20.3
Yüksekokul Üniversite	6	5.1
Toplam	118	100.0

Annelerin %10.2'sinde (n=12) (şekil – 6 ve 7), bebeklerinde %6.8'inde (n=8) (şekil – 8), vajinal sekresyon örneklerin %3.4'ünde (n=4) TTV DNA bulundu. Yüzonsekiz olgunun kord kanında ve anne sütünde TTV DNA saptanmadı.

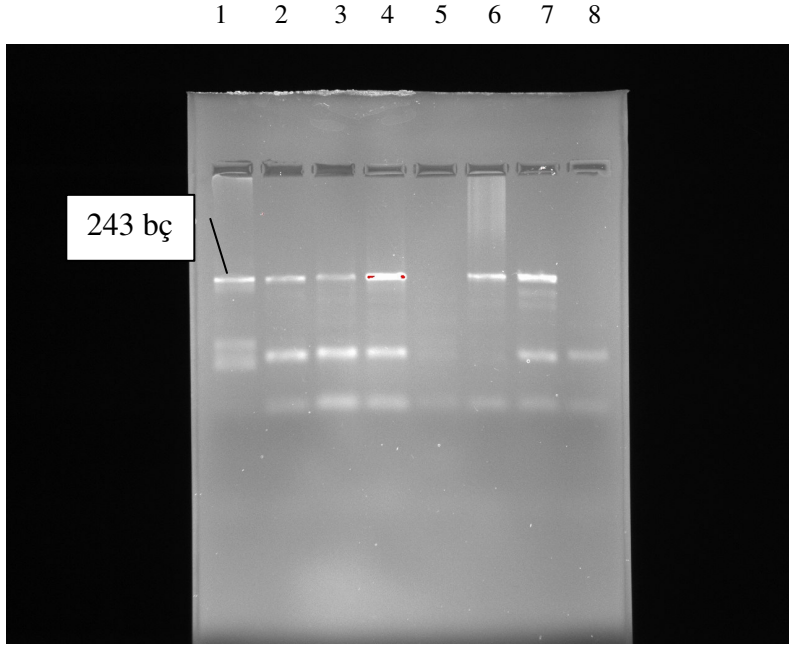
Bütün annelerin antiHCV, antiHIV testleri negatif, antiHAV testi pozitif ve 24 annenin (%20.3) antiHBs pozitif olarak bulundu. Serumunda TTV DNA pozitif olan annelerin % 16.7'si (n=2) antiHBs pozitif olarak bulundu. Serumunda TTV DNA pozitifliği ile antiHBs pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$).

Serumunda TTV DNA pozitifliği olan annelerin %66.7'sinde (n=8) bebeklerinin serumunda TTV DNA pozitifliği mevcuttu. Serumunda TTV DNA pozitif olan anneler ile bebeklerinde TTV DNA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır ($p=0.0001$).



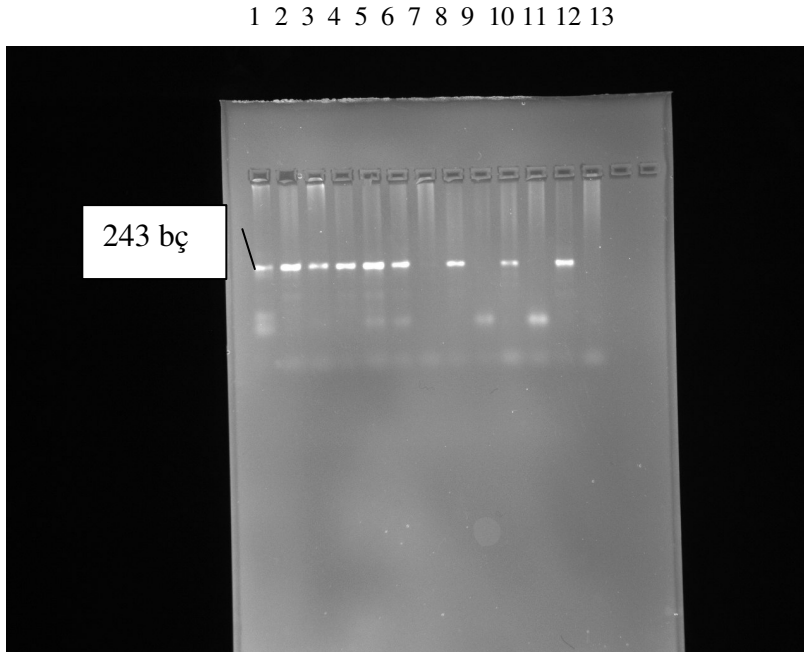
Şekil - 6: TTV DNA pozitif olan anne serum örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

1: 100 bç'lik marker (Fermantas, Litvanya). Spesifik ürün 243 bç'i büyüklüğündedir. Marker'da bulunan 200-300 bç'lik ürünler arasında konumlanmaktadır. 2: TTV DNA'sı içeren pozitif kontrol. 4, 5, 6, 7, 8: TTV DNA'sı pozitif örnekler. 3: TTV DNA'sı negatif örnek.



Şekil - 7: TTV DNA pozitif olan anne serum örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

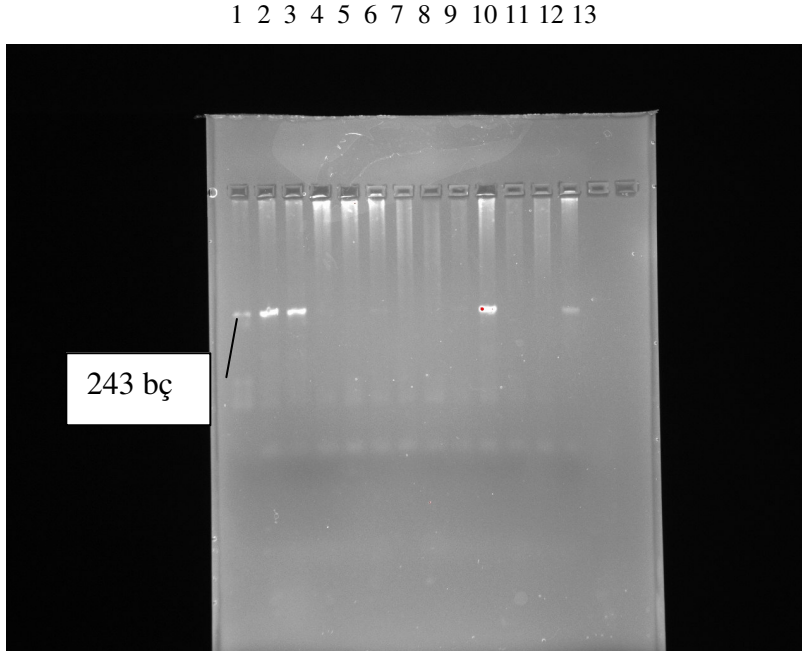
1: TTV DNA'sı içeren pozitif kontrol. Spesifik ürün 243 bç'i büyüklüğündedir. 2, 3, 4, 6, 7: TTV DNA'sı pozitif örnekler. 5, 8: TTV DNA'sı negatif örnekler.



Şekil - 8: TTV DNA pozitif olan bebek serum örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

1: TTV DNA'sı içeren pozitif kontrol. Spesifik ürün 243 bç'i büyüklüğündedir. 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12: TTV DNA'sı pozitif örnekler. 7, 9, 11, 13: TTV DNA'sı negatif örnekler.

TTV DNA pozitif olan annelerin %33.3'ünde (n=4) vajinal sekresyonlarında TTV DNA pozitif olarak bulundu (şekil - 9). Vajinal sekresyonlarında TTV DNA saptanan annelerin %75'inde (n=3) bebeklerinde TTV DNA pozitif olarak bulundu. TTV DNA pozitif olan bebeklerin %62.5'i (n=5) normal spontan vajinal yolla, %37.5'u (n=3) sezeryanla doğum yaptı. Doğum şekli ile bebeklerde TTV DNA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil - 9: TTV DNA pozitifliği saptanan vajinal sekresyon örneklerine ait elektroforez jel fotoğrafı.

1: TTV DNA'sı içeren pozitif kontrol. Spesifik ürün 243 bç'i büyüklüğündedir. 2, 3, 10, 13: TTV DNA'sı pozitif örnekler. 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12: TTV DNA'sı negatif örnekler.

TARTIŞMA

A'dan E'ye kadar olan hepatit viruslarına ait belirleyicilerin hiçbirisinin gösterilemediği, enfeksiyöz akut, kronik hepatitlere ve transfüzyon sonrası hepatit olgularına sıkça rastlanmaktadır. Bu durum henüz tanımlanmamış enfeksiyöz ajanların varlığını gündeme getirmiştir. Bugüne kadar idiopatik olarak tanımlanmış karaciğer hastalıklarının etyolojisinde rol oynayan olası ajanların tanımlanması amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda, 1997 yılında, transfusion transmitted (TT) virus adı verilen yeni bir virus izole edilmiştir (4, 18).

TT virusla ilgili veriler arttıkça konunun beklenenden daha karmaşık olduğu ortaya çıkmıştır. TTV'nin sağlıklı kişilerde de yüksek oranda saptandığının rapor edilmesiyle, hepatitlerde muhtemel etyolojik rolü tartışılmaya başlanmıştır. TTV'nin yeni bir hepatit etkeni olduğunu söylemek için henüz yeterli bilgi yoktur. Virusun bir DNA virusünden beklenmeyecek derecede yüksek genetik çeşitliliği, tanıda yalnız moleküler yöntemlerin kullanılabilmesi ve duyarlılığın uygulanan protokole göre ciddi derecede değişmesi araştırmaları güçleştirmektedir. Virusun serumda doğru olarak saptanmasına imkan veren evrensel primerlerin oluşturulmasına ihtiyaç vardır. Bu primerler oluşturulduktan sonra hangi hastalık veya hastalıklarla nasıl bir ilişkisi olduğu ortaya çıkartılabilecektir. Ancak virus ile ilgili yapılan çalışmalar devam etmekte buna bağlı olarak da TTV ile ilgili bilgiler sürekli değişmektedir.

TTV enfeksiyonu sağlıklı kişilerde %1 ile %90 arasında görülmektedir. (28, 58, 75). Ülkemizde kan donörlerinde yapılan çalışmalarda TTV enfeksiyon sıklığı Erensoy ve arkadaşları tarafından %51.6 oranında, Tunçbilek ve arkadaşları tarafından %4.5 oranında saptanmıştır (76, 77). Çalışmamızda reproduktif dönemdeki sağlıklı kadınlarda enfeksiyon sıklığı %10.2 olarak bulunmuştur ve ORF1 içerisinde bulunan bölgeyi hedef alan semi-nested öncül seti kullanılmıştır (57). ORF1 bölgesindeki çeşitlilik, öncüllerin her tür izolatu saptayabilmesini sınırlamaktadır. Çalışmalarda; öncül setleri UTR bölgesini hedef

alacak şekilde değiştirildiğinde, TTV pozitifliğinin yükseldiğini gözlenmiştir (78).

Sosyo-ekonomik düzeyi yüksek olan ülkelerde TTV enfeksiyonları düşük düzeylerde görülmektedir (49, 50, 79). Çalışmamıza katılan annelerin %8.5'nu eğitimsiz ve %39.8'ni ilkokul mezunu sosyo-kültürel seviyesi düşük anneler oluşturmuştur. Çalışmamızda annelerin eğitim düzeyleri ile TTV DNA pozitiflikleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Çalışma grubumuzun küçük oluşu ve grubumuzda yüksek okul ve üniversite mezunlarının az sayıda olması (%5.1) anlamlı sonuçların çıkmasını engelleyebilecek bir faktör olarak görülmektedir.

TTV enfeksiyonu gebelerde ve lohusalarda gebe olmayan sağlıklı kadınlara göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Gebelerde yaşa veya gebelik süresine göre TTV pozitifliği oranı açısından anlamlı bir farklılık yoktur. Kan transfüzyonu alma hikayesi olmayan gebelerin %20'sinde saptanmıştır (10). Bu TTV enfeksiyonunun kan yoluyla bulaşmadığını gösterir.

Çeşitli ülkelerde sağlıklı bireylerde virus serumda saptanmıştır. Bazı çalışmalarda, TTV enfeksiyonu ile ALT düzeyindeki değişiklik arasında korelasyon bulunmuştur (10, 58). Bizim çalışmamızdaki gebelerin hepsi sağlıklıydı.

Sağlıklı popülasyona göre HAV, HBV, HCV, HIV enfeksiyonu olan kişilerde TTV pozitifliğinin arttığını görülmüştür (15, 74). Bazı çalışmalarda, HCV enfeksiyonu ile TTV viremi arasında bir korelasyon bulunamamıştır (69). Bizim çalışmamızda bütün annelerin antiHCV, antiHIV testleri negatif, antiHAV testi ve %20.3 oranında antiHBs pozitif olarak bulundu. TTV DNA pozitif olan anneler ile antiHBs pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Sonuç olarak, TTV'nin özellikle HBV, HCV ve HIV ko-enfeksiyonlarında patojeniteye katkısı, sadece TTV saptanan olgularda viral yük ile patojenite arasındaki ilişkinin araştırılması ve karaciğer dışı

manifestasyonlarının da olup olmadığının belirlenmesi için daha geniş serileri kapsayan çalışmaların yapılması gerekmektedir.

TTV DNA pozitifliği saptanan 12 anneye ait bebeklerin, kord kanında TTV DNA saptanmamışken, 8 bebekte TTV DNA görülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda, intrauterin geçiş için birbirinden çok farklı sonuçlar bulunmuştur. Tayvanlı gebe kadınlarda yapılan bir çalışmada TTV viremi prevalansı % 40 bulunmuştur. Bir çalışmada TTV DNA'nın annedeki prevalansı %30 iken, TTV DNA 100 kordon kanının birisinde saptanmıştır (10). Kongo'da 3 aylık bebeklerde TTV DNA %2.9 oranında bulunmuştur. Bu intrauterin geçişin çok önemli bir etken olmadığını gösterir. Fakat bazı çalışmalarda, bebeklerin kordon kanıyla enfekte olabileceği gösterilmiştir. Bu düzeyde farklı sonuçların nedeni veya nedenleri tam olarak açıklanamamaktadır. Bir çalışmada; yenidoğanlarda enfeksiyonun doğumdan aylar sonra saptanmayabileceği, çünkü anneden geçen antikorların kanda olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle TTV'nin ilk kez doğumdan 6 ay sonra saptanabileceğini önermişlerdir (10). Diğer bir çalışmada, virus 1 aylık infantlarda görülmezken, ilk kez 1.5-2 aylıkken daha sonra diğer infantlarda 3 ve 8 aylıkken saptanmıştır (6).

Anne sütü ile beslenen infantlarda TTV enfeksiyonu arasında korelasyon bulunamamıştır. Anne sütü ile beslenmeyen infantların çoğunun enfekte olduğu gösterilmiştir (40, 74). Diğer çalışmalarda, anne sütünde TTV DNA saptanması, anne sütüyle beslenmenin TTV enfeksiyonuna neden olabilecek ana yollardan biri olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda, anne sütünde TTV DNA saptanmamıştır. TTV'nin anne sütü ve plasental kanla geçebileceği düşünülmüştür. Ancak, bu örneklerde virusün bulunması, infantları enfekte edebileceği anlamına gelmediği ve maternal viremi düzeylerinin ise geçişte büyük bir role sahip olduğu belirtilmiştir.

TTV pozitif gebelerin vajinal sekresyonlarında TTV saptanmıştır ve TTV pozitifliği açısından doğum şeklinin önemli olmadığı bulunmuştur (10). Çalışmamızda, TTV DNA pozitifliği saptanan 12 annenin 4'ünde vajinal

sekresyonda TTV DNA saptandı. Doğum şekli ile bebeklerde TTV DNA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. Çalışma grubumuzun küçük oluşu anlamlı sonuçların çıkmasını engelleyebilecek bir etken olarak görülmektedir.

TTV'nin keşfi ile akla gelen en önemli soru patojenitesidir. Bununla ilgili genel bir fikir birliği yoktur, fakat çoğu araştırma patojenik olmadığını göstermektedir. Obstetrisyenler, bu virus saptanırsa, anne ve çocuğu klinik semptomlar açısından dikkatle takip etmelidirler. Ayrıca, anneden çocuğa geçişte geçiş yolunun bilinmesi de çok önemlidir.

SONUÇ

Çalışma Aralık 2004 - Temmuz 2005 tarihleri arasında 120 gebe üzerinde uygulandı. TTV'nin gebelerde sıklığı ve anneden çocuğa geçiş yolu değerlendirildi.

TT virusun anneden çocuğa geçişinde, horizontal enfeksiyonun vertikal enfeksiyona göre daha fazla rol oynadığı bulundu.

ÖZET

TTV, insanlardan izole edilen ilk tek iplikli çembersel DNA virusudur. Virus hayatın erken dönemlerinde alınır ve enfeksiyonun sıklığı yaşla birlikte artar. Bu virusun geçiş yolu tam olarak anlaşılamamıştır.

Biz; gebelerde TTV enfeksiyonunun sıklığını ve anneden bebeğe geçiş yolunu araştırmayı amaçladık. Bu amaçla; 120 gebenin kan, süt, vajinal sekresyon örnekleri, doğum sırasında kordon kanları ve bebekleri 3 aylık olduğunda kan örnekleri alındı. İki gebenin serum örnekleri kontamine olduğu için çalışma dışı bırakıldı. TTV DNA'yı saptamak için PCR kullanıldı. İstatiksel analiz için ki-kare testi kullanıldı, $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

118 annenin 12'sinde (%10.2) TTV DNA varlığı saptandı. TTV DNA varlığı saptanan annelerden doğan 12 bebekten 8'inde (%6.8) TTV DNA pozitifliği saptandı. Serumunda TTV DNA pozitif olan anneler ile bebeklerinde TTV DNA pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görüldü ($p=0.0001$). TTV DNA kordon kanında ve süt örneklerinde saptanmadı. TTV ile enfekte annelerin %16.7'sinde antiHBs pozitif olarak tespit edildi TTV DNA pozitif olan annelerin %33.3'ünde vajinal sekresyonlarında TTV DNA pozitif olarak bulundu. Doğum şekli ile bebeklerde TTV DNA pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$).

Bu bulgular; TT virusun anneden çocuğa geçişinde vertikal enfeksiyona göre horizontal enfeksiyonun daha fazla rol aldığını göstermektedir.

SUMMARY

TTV is the unique single stranded circular DNA virus isolated from humans. Virus is acquired early in life and the prevalence of infection increases with age. The mode of TTV transmission is unclear.

We aimed to study the frequency of TTV infection in pregnant women and the route of transmission from mother to infant. Serum, breast milk, vaginal secretion from 120 pregnant women, the cord blood at the time of delivery and the serum of their newborns whose ages were 3-months were collected. The serum samples of 2 pregnant women were excluded from the study because of contamination. Polymerase chain reaction was performed to detect TTV DNA. Chi-square test was used for the statistical analysis, $p < 0.05$ was considered to have statistical significance.

TTV DNA was detected in 12 (10.2%) of 118 women. Only 8 (6.8%) infants among 12 infants whose mothers were infected with TTV were positive for TTV DNA. There was significant difference in infection of TTV DNA between TTV-positive mothers and their infants ($p = 0.0001$). No TTV DNA was detected in the cord blood and breast milk samples. AntiHBs was detected in 16.7% of TTV infected mothers. TTV DNA in vaginal secretion from TTV-positive women was detected 33.3%. There was no significant difference in infection of TTV DNA between vaginal delivery or abdominal cesarean section ($p > 0.05$).

These findings suggest that horizontal infection is more likely than vertical infection mother - to - child transmission of TTV.

KAYNAKLAR

1. Tuveri R, Perret JL, Delaporte E, Nguemby-Mbina C, D'Allones LR, Henzel D, Faivre D, Scarpa B, Contu P, Colombo M, Thiers V, Brechot C, Larouze B. Prevalence and genetic variants of hepatitis GB-C/HG and TT viruses in Gabon, equatorial Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 63(3-4): 192-8.
2. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 241(1): 92-7.
3. Iso K, Suzuki Y, Takayama. Mother-to-infant transmission of TT virus in Japan. *Int J Gynaecol Obstet.* 2001; 75(1): 11-9.
4. Lefrere JJ, Roudot-Thoraval F, Lefrere F, Kanfer A, Mariotti M, Lerable J, Thauvin M, Lefevre G, Rouger P, Girot R. Natural history of the TT virus infection through follow-up of TTV DNA-positive multiple-transfused patients. *Blood.* 2000; 95(1): 347-51.
5. Zhong M, Wen S, Zhou F. Transfusion transmitted virus infection in mother-to-infant transmission. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2001; 36(6): 328-9.
6. Sugiyama K, Goto K, Ando T, Mizutani F, Terabe K, Yokoyama T. Highly diverse TTV population in infants and their mothers. *Virus Res.* 2001 ;73(2): 183-8.
7. Morrica A, Maggi F, Vatteroni ML, Fornai C, Pistello M, Ciccorossi P, Grassi E, Gennazzani A, Bendinelli M. TT virus: evidence for transplacental transmission. *J Infect Dis.* 2000; 181(2): 803-4.
8. Schroter M, Polywka S, Zollner B, Schafer P, Laufs R, Feucht HH. Detection of TT virus DNA and GB virus type C/Hepatitis G virus RNA in serum and breast milk: determination of mother-to-child transmission. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(2): 745-7.
9. Toyoda H, Naruse M, Yokozaki S, Morita K, Nakano I, Itakura A, Okamura M, Fukuda Y, Hayakawa T. Prevalence of infection with TT

- virus (TTV), a novel DNA virus, in healthy Japanese subjects, newborn infants, cord blood and breast milk. *J Infect.* 1999; 38(3): 198-9.
10. Iso K, Suzuki Y, Takayama M. Mother-to-infant transmission of TT virus in Japan. *Int J Gynaecol Obstet.* 2001; 75(1): 11-9.
 11. Lisitsyn N, Lisitsyn N, Wigler M. Cloning the differences between two complex genomes. *Science.* 1993; 259(5097): 946-51.
 12. Okamoto H, Nishizawa T, Ukita M. A novel unenveloped DNA virus (TT virus) associated with acute and chronic non-A to G hepatitis. *Intervirology.* 1999; 42(2-3): 196-204.
 13. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol.* 1998; 56(2): 128-32.
 14. Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Birkenmeyer LG, Chalmers ML, Pilot-Matias TJ, Dexai SM. Molecular and biophysical characterization of TT virus: evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96(6): 3177-82.
 15. Bendinelli M, Pistello M, Maggi F, Fornai C, Freer G, Vatteroni ML. Molecular properties, biology, and clinical implications of TT virus, a recently identified widespread infectious agent of humans. *Clin Microbiol Rev.* 2001; 14(1): 98-113.
 16. Okamoto H, Nishizawa T, Ukita M, Takahashi M, Fukuda M, Mizuka H, Miyakawa Y, Mayumi M. The entire sequence of a TT virus isolate from the USA (tuso1): comparison with reported isolates and phylogenetic analysis. *Virology* 1999; 259: 437-448.
 17. Hijikata M, Takayashi K, Mishiro S. Complete circular DNA genome of a TT virus variant (isolate name SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of diversity beyond genotypes *Virology* 1999; 260: 17-22.
 18. Ergünay K, Ustacelebi S, Bayraktar Y, Gunalp A. Detection of TT virus DNA by nested-PCR method in non A-E hepatitis cases *Mikrobiyol Bul.* 2005; 39(1): 53-62.

19. Mankertz A, Mankertz J, Wolf K, Buhk HJ. Identification of a protein essential for replication of porcine circovirus. *J Gen Virol.* 1998; 79(Pt 2): 381-4.
20. Okamoto H, Niskizawa T, Ukita M, Kato N, Ikeda H, Ijzuka H, Miyakawa Y, Mayumi M. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (ttv) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol. Res* 1998; 10: 1-16.
21. Ukita M, Okamoto H, Kato N, Miyakawa Y, Mayumi M. Excretion into bile of a novel unenveloped DNA virus (TT virus) associated with acute and chronic non-A-G hepatitis. *J Infect Dis.* 1999; 179(5): 1245-8.
22. Maggi F, Fornai C, Zaccaro L, Morrica A, Vatteroni ML, Isola P, Marchi S, Ricchiuti A, Pistello M, Bendinelli M. TT virus (TTV) loads associated with different peripheral blood cell types and evidence for TTV replication in activated mononuclear cells. *J Med Virol.* 2001; 64(2): 190-4.
23. Okamoto H, Nishizawa T, Tawara A, Peng Y, Takahashi M, Kishimoto J, Tanaka T, Miyakawa Y, Mayumi M. Species-specific TT viruses in humans and nonhuman primates and their phylogenetic relatedness. *Virology.* 2000; 277(2): 368-78.
24. Takahashi K, Iwasa Y, Hijikata M, Mishiro S. Identification of a new human DNA virus (TTV-like mini virus, TLMV) intermediately related to TT virus and chicken anemia virus. *Arch Virol.* 2000; 145(5): 979-93.
25. Biagini P, Gallian P, Attoui H, Touinssi M, Cantaloube J, de Micco P, de Lamballerie X. Genetic analysis of full-length genomes and subgenomic sequences of TT virus-like mini virus human isolates. *J Gen Virol.* 2001; 82(Pt 2): 379-83.
26. Hijikata M, Shimizu YK, Kato H, Iwamoto A, Shih JW, Alter HJ, Purcell RH, Yoshikura H. Equilibrium centrifugation studies of hepatitis C virus: evidence for circulating immune complexes. *J Virol.* 1993; 67(4): 1953-8.
27. Worobey M. Extensive homologous recombination among widely divergent TT viruses. *J Virol.* 2000; 74(16): 7666-70.

28. Niel C, Saback FL, Lampe E. Coinfection with multiple TT virus strains belonging to different genotypes is a common event in healthy Brazilian adults. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(5): 1926-30.
29. Erker JC, Leary TP, Desai SM, Chalmers ML, Mushahwar IK. Analyses of TT virus full-length genomic sequences. *J Gen Virol.* 1999; 80 (Pt 7): 1743-50.
30. Mankertz A, Persson F, Mankertz J, Blaess G, Buhk HJ. Mapping and characterization of the origin of DNA replication of porcine circovirus. *J Virol.* 1997; 71(3): 2562-6.
31. Noteborn MH, de Boer GF, van Roozelaar DJ, Karreman C, Kranenburg O, Vos JG, Jeurissen SH, Hoeben RC, Zantema A, Koch G, et al. Characterization of cloned chicken anemia virus DNA that contains all elements for the infectious replication cycle. *J Virol.* 1991; 65(6): 3131-9.
32. Meehan BM, Creelan JL, McNulty MS, Todd D Sequence of porcine circovirus DNA: affinities with plant circoviruses. *J Gen Virol.* 1997; 78(Pt 1): 221-7.
33. Miyata H, Tsunoda H, Kazi A, Yamada A, Khan MA, Murakami J, Kamahora T, Shiraki K, Hino S. Identification of a novel GC-rich 113-nucleotide region to complete the circular, single-stranded DNA genome of TT virus, the first human circovirus. *J Virol.* 1999 May;73(5):3582-6.
34. Heller F, Zachoval R, Koelzer A, Nitschko H, Froesner GG. Isolate KAV: a new genotype of the TT-virus family. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 289(5): 937-41.
34. Abe K, Inami T, Ishikawa K, Nakamura S, Goto S. TTV infection in nonhuman primates and characterization of the viral genome: identification of simian TTV isolates. *J Virol* 2000; 74: 1549-1553.
35. Yamamoto T, Kajino K, Ogawa M, Gotoh I, Matsuoka S, Suzuki K, Moriyama M, Okubo H, Kudo M, Arakawa Y, Hino O. Hepatocellular carcinomas infected with the novel TT DNA virus lack viral integration. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 251(1): 339-43.
36. Tanaka Y, Mizokami M, Orito E, Ohno T, Nakano T, Kato T, Iida S, Ueda R Lack of integrated TT virus (TTV) genomes in cellular DNA in

- infected human hematopoietic cells. *Leuk Lymphoma*. 2000; 38(3-4): 411-7.
37. Cheng J, Hada T, Liu W, Imanishi H, Iijima H, Shimomura S, Amuro Y, Kubota A, Higashino K. Investigation of TTV by in situ hybridization in patients with chronic hepatitis. *Hepatol Res*. 2000; 18(1): 43-53.
 38. Rodriguez-Inigo E, Casqueiro M, Bartolome J, Ortiz-Movilla N, Lopez-Alcorocho JM, Herrero M, Manzarbeitia F, Oliva H, Carreno V. Detection of TT virus DNA in liver biopsies by in situ hybridization. *Am J Pathol*. 2000; 156(4): 1227-34.
 39. Okamoto H, Ukita M, Nishizawa T, Kishimoto J, Hoshi Y, Mizuo H, Tanaka T, Miyakawa Y, Mayumi M. Circular double-stranded forms of TT virus DNA in the liver. *J Virol*. 2000; 74(11): 5161-7.
 40. Goto K, Sugiyama K, Ando T, Mizutani F, Terabe K, Tanaka K, Nishiyama M, Wada Y. Detection rates of TT virus DNA in serum of umbilical cord blood, breast milk and saliva. *Tohoku J Exp Med*. 2000; 191(4): 203-7.
 41. Gallian P, Biagini P, Zhong S, Touinssi M, Yeo W, Cantaloube JF, Attoui H, de Micco P, Johnson PJ, de Lamballerie X. TT virus: a study of molecular epidemiology and transmission of genotypes 1, 2 and 3. *J Clin Virol*. 2000; 17(1): 43-9.
 42. Okamoto H, Takahashi M, Kato N, Fukuda M, Tawara A, Fukuda S, Tanaka T, Miyakawa Y, Mayumi M. Sequestration of TT virus of restricted genotypes in peripheral blood mononuclear cells. *J Virol*. 2000; 74(21): 10236-9.
 43. Okamoto H, Kato N, Iizuka H, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Distinct genotypes of a nonenveloped DNA virus associated with posttransfusion non-A to G hepatitis (TT virus) in plasma and peripheral blood mononuclear cells. *J Med Virol*. 1999; 57(3): 252-8.
 44. Saback FL, Gomes SA, de Paula VS, da Silva RR, Lewis-Ximenez LL, Niel C. Age-specific prevalence and transmission of TT virus. *J Med Virol*. 1999; 59(3): 318-22.

45. Hirata D, Kaneko N, Iwamoto M, Yoshio T, Okazaki H, Mimori A, Masuyama J, Minota S. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with non-A to G hepatitis in patients with rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol.* 1998; 37(12): 1361-2.
46. Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM, Allan GM. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol.* 1998; 79 (Pt 9): 2171-9.
47. Tanaka Y, Mizokami M, Orito E, Ohno T, Nakano T, Kato T, Kato H, Mukaide M, Park YM, Kim BS, Ueda R. New genotypes of TT virus (TTV) and a genotyping assay based on restriction fragment length polymorphism. *FEBS Lett.* 1998; 437(3): 201-6.
48. Yang SS, Wu CH, Chen TH, Huang YY, Huang CS. TT viral infection through blood transfusion: retrospective investigation on patients in a prospective study of post-transfusion hepatitis. *World J Gastroenterol.* 2000; 6(1): 70-73.
49. Petrova EP, Ttomas MG, Williams R. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet* 1998; 352: 195-197
50. Simmonds P, Davidson F, Lycett C, Prescott LE, MacDonald DM, Ellender J, Yap PL, Ludlam CA, Haydon GH, Gillon J, Jarvis LM. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet.* 1998; 352(9123): 191-5. Erratum in: *Lancet* 1998 Oct 24;352(9137):1394.
51. Yarar C, Bor O, Us T, Akgun Y, Akgun NA. Investigation of TT virus-DNA in multitransfused children and healthy children. *Mikrobiyol Bul.* 2005; 39(1): 63-71.
52. Utsunomiya S, Yoshioka K, Wakita T, Seno H, Takagi K, Ishigami M, Yano M, Watanabe K, Kobayashi M, Watanabe K, Kishimoto H, Kakumu S. TT virus infection in hemodialysis patients. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94(12): 3567-70.

53. Fornai C, Maggi F, Vatteroni ML, Pistello M, Bendinelli M. High prevalence of TT virus (TTV) and TTV-like minivirus in cervical swabs. *J Clin Microbiol.* 2000; 39(5): 2022-4.
54. Chan PK, Tam WH, Yeo W, Cheung JL, Zhong S, Cheng AF. High carriage rate of TT virus in the cervixes of pregnant women. *Clin Infect Dis.* 2001; 32(9): 1376-7. Epub 2001 Apr 9.
55. Inami T, Konomi N, Arakawa Y, Abe K. High prevalence of TT virus DNA in human saliva and semen. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(6): 2407-8.
56. Ross RS, Viazov S, Runde V, Schaefer UW, Roggendorf M. Detection of TT virus DNA in specimens other than blood. *J Clin Virol.* 1999; 13(3): 181-4.
57. Leary TP, Erker JC, Chalmers ML, Desai SM, Mushahwar IK. Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals. *J Gen Virol.* 1999; 80 (8): 2115-20.
58. Abe K, Inami T, Asano K, Miyoshi C, Masaki N, Hayashi S, Ishikawa K, Takebe Y, Win KM, El-Zayadi AR, Han KH, Zhang DY. TT virus infection is widespread in the general populations from different geographic regions. *J Clin Microbiol.* 1999; 37 (8): 2703-5.
59. Tagger A, Donato F, Ribero ML, Binelli G, Gelatti U, Portera G, Albertini A, Fasola M, Chiesa R, Nardi G. A case-control study on a novel DNA virus (TT virus) infection and hepatocellular carcinoma. The Brescia HCC Study. *Hepatology.* 1999; 30(1): 294-9.
60. Hohne M, Berg T, Muller AR, Schreier E. Detection of sequences of TT virus, a novel DNA virus, in German patients. *J Gen Virol.* 1998; 79 (Pt 11): 2761-4.
61. Nakagawa N, Ikoma J, Ishihara T, Yasui N, Fujita N, Iwasa M, Kaito M, Watanabe S, Adachi Y. High prevalence of transfusion-transmitted virus among patients with non-B, non-C hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 1999; 86(8): 1437-40.
62. Tanaka Y, Hayashi J, Ariyama I, Furusyo N, Etoh Y, Kashiwagi S. Seroepidemiology of TT virus infection and relationship between genotype and liver damage. *Dig Dis Sci.* 2000; 45(11): 2214-20.

63. Okamura A, Yoshioka M, Kubota M, Kikuta H, Ishiko H, Kobayashi K. Detection of a novel DNA virus (TTV) sequence in peripheral blood mononuclear cells. *J Med Virol.* 1999; 58(2): 174-7.
64. Fornis X, Hegerich P, Darnell A, Emerson SU, Purcell RH, Bukh J. High prevalence of TT virus (TTV) infection in patients on maintenance hemodialysis: frequent mixed infections with different genotypes and lack of evidence of associated liver disease. *J Med Virol.* 1999; 59(3): 313-7.
65. Yokozaki S, Toyoda H, Nakano I, Katano Y, Ebata M, Fukuda Y, Takamatsu J, Saito H, Hayakawa T. Infection with TT virus, a novel transfusion-transmissible DNA virus, in haemophiliacs and in blood products. *Br J Haematol.* 1999; 105(4): 1114-9. Erratum in: *Br J Haematol* 1999; 107(1):218.
66. Davidson F, MacDonald D, Mokili JL, Prescott LE, Graham S, Simmonds P. Early acquisition of TT virus (TTV) in an area endemic for TTV infection. *J Infect Dis.* 1999; 179(5): 1070-6.
67. Altindis M, Aktepe OC, Cetinkaya Z, Ozdemir M. TT virus and hepatitis G virus in different risk groups in Afyon] *Mikrobiyol Bul.* 2004; 38(1-2): 61-7.
68. Iriyama M, Kimura H, Nishikawa K, Yoshioka K, Wakita T, Nishimura N, Shibata M, Ozaki T, Morishima T. The prevalence of TT virus (TTV) infection and its relationship to hepatitis in children. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 1999; 188(2): 83-9.
69. Bagaglio S, Sitia G, Prati D, Cella D, Hasson H, Novati R, Lazzarin A, Morsica G. Mother-to-child transmission of TT virus: sequence analysis of non-coding region of TT virus in infected mother-infant pairs. *Arch Virol.* 2002; 147(4): 803-12.
70. Goto K, Sugiyama K, Terabe K, Mizutani F, Wada Y. Detection rates of TT virus among children who visited a general hospital in Japan. *J Med Virol.* 1999; 57(4): 405-7.
71. Maggi F, Fornai C, Morrica A, Casula F, Vatteroni ML, Marchi S, Cicciorossi P, Riente L, Pistello M, Bendinelli M. High prevalence of TT

- virus viremia in italian patients, regardless of age, clinical diagnosis, and previous interferon treatment. *J Infect Dis.* 1999; 180(3): 838-42.
72. Kazi A, Miyata H, Kurokawa K, Khan MA, Kamahora T, Katamine S, Hino S. High frequency of postnatal transmission of TT virus in infancy. *Arch Virol.* 2000; 145(3): 535-40.
 73. Ross RS, Viazov S, Runde V, Schaefer UW, Roggendorf M. Detection of TT virus DNA in specimens other than blood. *J Clin Virol.* 1999; 13(3): 181-4.
 74. Lin HH, Kao JH, Lee PI, Chen DS. Early acquisition of TT virus in infants: possible minor role of maternal transmission. *J Med Virol.* 2002; 66(2): 285-90.
 75. Prescott LE, MacDonald DM, Davidson F, Mokili J, Pritchard DI, Arnot DE, Riley EM, Greenwood BM, Hamid S, Saeed AA, McClure MO, Smith DB, Simmonds P. Sequence diversity of TT virus in geographically dispersed human populations. *J Gen Virol* 1999; 80: 1751-1758.
 76. Erensoy S, Sayiner AA, Turkoglu S, Canatan D, Akarca US, Sertoç R, Ozacar T, Batur Y, Badur S, Bilgic A. TT virus infection and genotype distribution in blood donors and a group of patients from Turkey. *Infection.* 2002; 30 (5): 299-302.
 77. Tunçbilek S, Coşkun D, Çetinkaya F, Hızıl N, Tahtakılıç P. İstanbul'da kan donörlerinde TT virusü (TTV) prevalansının araştırılması. *Flora* 1999; 4(4): 273-277.
 78. Irving WL, Ball JK, Berridge S, Curran R, Grabowska AM, Jameson CL, Neal KR, Ryder SD, Thomson BJ. TT virus infection in patients with hepatitis C: frequency, persistence, and sequence heterogeneity. *J Infect Dis.* 1999; 180 (1): 27-34.
 79. TT-virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure, and cryptogenic cirrhosis. *Hepatology.* 1998; 28(3):839-42.