

T.C.  
Süleyman Demirel Üniversitesi  
Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı

**ISPARTA İL MERKEZİ KAN DONÖRLERİNDE  
GBV-C/HGV PREVALANSI VE HBV VE HCV İLE  
KOİNFEKSİYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

118411

**DR. SELÇUK KAYA**

**UZMANLIK TEZİ**

118411

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri  
Yönetim Birimi tarafından 418 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Y.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ  
2002-İSPARTA**

## İÇİNDEKİLER

<b>Teşekkür</b>	<b>ii</b>
<b>Kısaltmalar</b>	<b>iii</b>
<b>1-GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2-GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
<b>2.1-Hepatit A virusu</b>	<b>3</b>
<b>2.2-Hepatit B virusu</b>	<b>5</b>
<b>2.3-Hepatit C virusu</b>	<b>8</b>
<b>2.4-Hepatit D virusu</b>	<b>10</b>
<b>2.5-Hepatit E virusu</b>	<b>12</b>
<b>2.6-Hepatit G virusu</b>	<b>15</b>
<b>3-GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>40</b>
<b>4-BULGULAR</b>	<b>46</b>
<b>5-TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	<b>48</b>
<b>ÖZET</b>	<b>57</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>58</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>59</b>

## TEŞEKKÜR

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimime başladığım andan itibaren bilgi ve deneyimleri ile; bryk bir hızla gelişen mikrobiyoloji dnyasında mikrobiyoloji eğitimimizin layık olduğu kaliteye ulaşmasında ve Isparta ve Goller Bqlgesinde yksek standartlarda hizmet veren Mikrobiyoloji Laboratuvarımızın gelişmesinde katkıları olan, başta tez danışmanım ve bqlm başkanımız Yrd. Doç. Dr. Buket Cicioğlu Arıdoğan olmak üzere, diğer hocalarımız Yrd. Doç. Dr. Mustafa Demirci ve Yrd. Doç. Dr. Ali Kudret Adiloğlu'na sonsuz minnet ve saygılarımı sunarım.

Eğitimim suresince her zaman birlikte çalışmak. . aldığım asistan arkadaşlarıma ve ayrıca laboratuvarımızın tmm biyolog ve teknisyenlerine bqtun içtenliğimle teşekkür ederim.

**KISALTMALAR**

Ab	: Antikor
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Ag	: Antijen
AIDS	: Acquired Immunodeficiency syndrome
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin triphoshatase
Anti-HBs	: Hepatit B yüzey antijenine karşı oluşan antikor
Anti-HBc	: Hepatit B cor antijenine karşı oluşan antikor
Anti-HBe	: Hepatit B e antijenine karşı oluşan antikor
CDC	: Center for Disease Control
cDNA	: complementary Deoksiribonükleik asit
CMV	: Citomegalo virus
DEN 1	: Denque virus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EBV	: Epstein Barr virusu
EIA	: Enzyme immunoassay
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
GBV-A	: GB virus A
GBV-B	: GB virus B
GBV-C	: GB virus C
HBsAg	: Hepatit B surface (yüzey) antijeni
HBcAg	: Hepatit B cor antijeni
HBeAg	: Hepatit B e antijeni
HBV	: Hepatit B virusu
HCC	: Hepatocellular carsinoma
HCV	: Hepatit C virusu
HDV	: Hepatit D virusu
HEV	: Hepatit E virusu
HFV	: Hepatit F virusu
HGV	: Hepatit G virusu



## GİRİŞ

Viral hepatitler tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olmuş ve yıllar içerisinde yapılan çalışmalar ile viral hepatitlere neden olan viruslar tanımlanmaya çalışılmıştır. Hepatite neden olan viruslardan, hepatit A ve hepatit B viruslarının yirminci yüzyılın ikinci yarısında ilk olarak tanımlanmasından sonra, etkeni izah edilemeyen hepatitli olgular görülmeye devam etmiştir. Non A non B (NANB) hepatit etkenlerini tanımlamaya yönelik çalışmalar, son yirmi yılda, ikisi parenteral (hepatit C virusu ve hepatit D virusu), diğeri enterik (hepatit E virusu) yolla bulaşan üç virusun bulunmasına yol açmıştır (1,2). Günümüzde akut ve kronik viral hepatit veya siroz olgularından en iyimser tahminle, tüm dünyada yıllık yaklaşık 300.000 olgunun bilinen hepatit A, B, C, D ve E virusları ile etiyolojik ilişkisi kurulamamaktadır. Bu nedenle A-E dışında yeni hepatit virusları keşfetmek için yoğun çabalar sarf edilmektedir. Tanısal testlerde her geçen gün artan ve artmakta olan gelişmelerle yeni hepatit viruslarının tanımlanmasına imkan sağlanmıştır. Bu çalışmalar sonucu tespit edilen viruslardan biride 1995 yılında bulunan hepatit G (HGV) virusudur (3).

Hepatit G ile ilgili ilk bilgiler 1960'lı yılların ortalarına kadar uzanmaktadır. 1967 yılında akut hepatit geçiren ve isminin baş harfleri GB olan Chicagolu bir cerrahın serumu marmosetlere (ipek maymunu) enjekte edilmiş ve hayvanlarda hepatit gelişimi izlenmiştir. Ancak genomik özelliklerinin ortaya konması son on yıldaki moleküler tanı yöntemlerinin gelişmesi ile mümkün olabilmıştır. İki farklı çalışma grubu tarafından yapılan araştırmalar GB virus A(GBV-A), GB virus B(GBV-B), GB virus C (GBV-C) ve HGV olarak adlandırılan 4 yeni ajanın tanımlanması ile sonuçlanmış, bunlardan GBV-A ve GBV-B'nin tamarin (maymun) virusları olduğu anlaşılmıştır. GBV-C ile HGV'nin ise nükleotid ve aminoasit sekans analizleri sonucunda aynı virusun izolatları oldukları ortaya çıkarılmış ve muhtemel bir non A-E hepatit virusu olarak sunulmuştur ( 1-6).

HGV tek sarmallı RNA virusu olup 2873 aminoasitten oluşan poliproteini kodlayan 9392 nükleotidli genoma sahiptir (7). Flaviviridae familyasında bulunur (8-11). Transfüzyon sonrası HCV infeksiyonuna sahip hastaların %28'i HGV ile

koinfekte olarak bulunmuştur. HGV'nin HBV ile koinfeksiyonlarında sık görülmektedir. Bir çalışmada HGV'nin HBV ile koinfeksiyonunun HCV'li ve non A-E hepatitli hastalardaki HGV görülmesinden daha sık olduğu bildirilmiştir (12). HBV enfeksiyonu nedeni ile karaciğer transplantasyonu yapılan hastalarda HGV'nin mutant olarak bulunduğu ve interferon tedavisi ile viral RNA yoğunluğunun azaldığı bildirilmiştir (13).

Virus farklı kan donör popülasyonlarında çeşitli prevalans oranları (%0.9'dan 14.6'ya kadar) ile dünya üzerine dağılmıştır (14-18). Epidemiyolojik veriler, akut veya kronik non A-E hepatitli hastalarda, hemodiyaliz hastalarında, HIV taşıyıcıları ile hemofili ve talesemi hastalarında, böbrek, karaciğer ve kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda HGV görülme sıklığının daha fazla olduğunu öne sürmektedir (19-29).

HGV parenteral geçiş gösteren bir enfeksiyondur ve hepatit B ve hepatit C ile koinfeksiyonu sık görülmektedir (19-21). Transmisyon şekilleri hakkında bugün için çok az bilgi vardır. Ancak seksüel yol ile transmisyon olduğunu destekleyen çalışmalar bulunmaktadır (22-24). Virusun infanta geçişi HIV veya HCV'den daha sık olarak gözlenmektedir (25). Bu ajanın klinik önemi hala kesin değildir; buna rağmen aplastik anemi ve fulminan hepatitte rollerinin olabileceği tartışılmaktadır. HGV'nin invivo ve invitro periferik kan mononükleer hücrelerinde replikasyonu gösterilmiştir (30,31). Birkaç çalışmada bu virusun hepatositlerde replikasyon yapmadığı bildirildiyse de, bunun aksini bildiren yayınlarda mevcuttur (30-35).

Bu çalışmada bizim amacımız; kan donörlerinde HGV markır prevalansını tespit etmek, HBV ve HCV enfeksiyonuna koinfeksiyon durumunu saptamak ve Isparta il merkezi kan donörlerinde sıklığının saptanıp Türkiye ve dünya üzerindeki dağılımını belirlemede yardımcı olmaktır. Çalışmanın diğer amacında, virusun taşıyıcılarından kan ürünü alan hastalar için klinik sonuçlarını araştırmaktır.

## GENEL BİLGİLER

### **Viral Hepatitler:**

Dünyada ölüm nedenlerinden ilk on arasında yer alan hepatosellüler karsinom ile ilişkisi ve büyük ekonomik problemlere neden olması sebebiyle dünya üzerinde yaygın olarak bulunan viral hepatitler eski Mısır ve antik Yunan döneminden beri bilinen hastalıklardır. Ancak adlandırılmaları ve etiyoloji konusundaki bilgiler 20. yüzyılın ikinci yarısına aittir.

Hepatitler, karaciğerin inflamasyonu ve nekrozuyla seyreden, karaciğerin fonksiyonlarının bozulması ile hayatı tehdit eden ve klinik tablonun seyrini, laboratuvar bulgularını ve prognozunu, etiyolojisinde rol oynayan etkenin belirlediği önemli bir hastalık grubudur. Karaciğerin anatomik, histolojik ve fizyolojik özelliklerinden dolayı hepatosellüler hasar, gerek non-infeksiyöz (alkol veya ilaç kullanımı, otoimmün, hemokromatozis, Wilson Hastalığı) gerekse infeksiyöz (CMV,EBV, Herpes viruslar, enteroviruslar) pek çok nedenle meydana gelebilmektedir. İnfeksiyöz etkenlerin çeşitliliği de ayırıcı tanıda büyük önem arz etmektedir. Etkenin nitelikleri ve konağın immün durumu ile bağlantılı olarak çok değişik klinik tablolar (akut, kronik hepatit portörlük, karaciğer karsinomu vb.) ortaya çıkmaktadır.

Ender olarak sporadik hepatite yol açan mikroorganizmalar (CMV, EBV, HSV, Enteroviruslar gibi) bir yana bırakılırsa, günümüzde asıl hedefleri hepatositler olan altı virusun viral hepatite neden olduğu bilinmektedir. Bunlar; Hepatit A virusu (HAV), Hepatit B virusu (HBV), Hepatit C virusu (HCV), Hepatit D virusu (HDV), Hepatit E virusu (HEV), Hepatit G virusu (HGV) dur.

### **Hepatit A Virusu( HAV)**

A tipi viral hepatit, tüm dünyada yaygın olarak bulunan; eski yıllarda epidemilere yol açmış bir enfeksiyon hastalığıdır. Picornaviridae ailesinde yer almakta olup, 1980’li yıllara dek “enterovirus tip 72” olarak sınıflandırılmakta idi; ancak fiziksel ve kimyasal koşullara direnç durumu, replikasyon özellikleri ve genom



yapısı ile aynı aile içerisinde sadece kendisinin yer aldığı Hepatovirus cinsi olarak sınıflandırılmıştır (36).

Kılıfsız, 27-32 nm çapında sferik bir yapıya sahip olan HAV, protein yapısındaki dört farklı yapı taşının yinelenmesinden meydana gelen bir kapsid tabakası ile; iç bölümde yer alan yaklaşık 7.5 kb uzunluğunda, lineer pozitif polariteli ve tek sarmallı, zarfsız bir RNA virusudur (37,38). Klonlanmış HAV cDNA'sının sekans analizleri yapılarak gerçekleştirilen genom incelemesinde farklı bölgelerin varlığı belirlenmiştir. Bu farklı bölgeler sırasıyla, 5'non translated region (NTR), kapsid proteinleri (P1) ve yapısal olmayan proteinleri (P2 ve P3) kodlayan bir "protein kodlayabilen gen bölgesi" (open reading frame -ORF), poli A parçası ile sonlanan kısa bir 3'NTR bölgesidir (38).

Midenin asit pH'sına dayanıklı olan hepatit A virusu, gastrointestinal mukozadan geçip karaciğere ulaşır ve karaciğerden safra yolu ile intestinal sisteme geçip, feçesle atılabilmektedir. Virus infekte kişinin gaitasında, semptomların başlamasından üç gün önce bulunur ve 10-12 gün süre ile devam eder. Su ve besinler yoluyla yani, fekal-oral yol en önemli bulaşma yoludur. Fekal-oral yol dışında, yakın temas, prenatal geçiş ve parenteral yol ile de bulaşma olabilir (39). İnkübasyon periyodu ortalama 28 gün olan HAV' nun kliniği asemptomatikten, fulminan hepatit tablosuna varıncaya kadar değişken olabilmektedir. İskandinav ülkelerinde HAV seroprevalansı % 17-20 iken, Afrika, Akdeniz kıyısı ve gelişmekte olan ülkelerde bu oran %95'lere çıkmaktadır (40,41).

Akut hepatit A'nın spesifik tanısı sıklıkla hepatit A'ya karşı gelişen IgM'lerin saptanması ile konur. Anti HAV IgM ya devam eden ya da yakın zamanda geçirilen bir infeksiyonu gösterir ve 12 aya kadar pozitif kalabilir. Anti HAV IgG ise yıllarca devam eder ve geçirilmiş infeksiyonu gösterir. Hücre kültürü mevcuttur ancak uzun zaman alması bakımından tanıda elverişli değildir. HAV RNA'yı saptamak için PCR yöntemleri ile serum ve dışkıda inceleme yapılarak tanı konulabilmektedir (37,38,41).

Taşıyıcılığı ve kronikleşmesi olmayan bu virusa karşı etkili ve güvenilir aşı geliştirilmiştir. Fekal-oral bulaşma olduğundan korunmada, hijyenik yaşam, temiz içme suyu, uygun ve sağlıklı kanalizasyon sistemi önemlidir.

A hepatitinin prognozu çok iyi olup iyileşme tamdır. Ancak % 1 oranında gelişebilen fulminan hepatit olgularında ise mortalite % 50-60 gibi yüksek oranlardadır (36).

### **Hepatit B virusu (HBV)**

Serum hepatiti, uzun kuluçka süreli hepatit, MS-2 hepatiti ve viral hepatit B diye isimlendirilen enfeksiyon hastalığının etkenidir. HBV küçük (en küçük DNA virusu), hepatotrop bir DNA virusu olup sadece insanları infekte eder. Yani doğadaki kaynağı, bu virusla infekte kişilerdir. Hepadnaviridae ailesinin ortohepadnavirus cinsindedir (42,43).

Hepatit B virusu elektron mikroskopunda incelenecek olursa, birbirine benzemeyen üç tip partiküle rastlanır; birincisi, yaklaşık 42-47 nm çapında, infeksiyöz özellikte, tam bir viryon yapısında, küresel şekilli "Dane partikülü" olarak da isimlendirilen partiküldür. Diğer ikisi nükleik asit ihtiva etmeyen, non infeksiyöz partiküllerdir. Her üç partikülde immünojeniktir. Dane partikülünün 7 nm kalınlıkta, lipid içeren bir zarfı vardır ve bu zarf 27 nm çaptaki iç çekirdeği çevreler. Nükleus çember şeklinde, kısmen çift iplikçikli, 3200 baz çifti uzunluğunda DNA molekülü içerir ve DNA polimeraz aktivitesine sahiptir (43,44).

HBV genomunda virus proteinlerini kodlayan 4 adet uzun "open reading frame (ORF)" vardır. Bunlar S, C, X ve P bölgeleridir. C geni (core-nükleokapsid geni) 21000 daltonluk "core" nükleokapsid polipeptidini (HBcAg) kodlar. Bu proteinin 17500 daltonluk bölümü HbeAg'dir. Translasyon C başlangıç kodonundan başladığında tam uzunluktaki C polipeptidi (HBcAg) sentezlenir; preC başlangıç kodonundan başladığında ise HbeAg proteini sentezlenir. PreS1, preS2 ve S bölgelerini içeren S geni viriondaki zarf proteinini (HbsAg) kodlar. Tüm HBsAg proteinleri ortak bir antijenik yapı (a determinanı) içerir. Ayrıca iki takım (d/y ve w/r) allel determinantları vardır. Böylece HBsAg'nin adw, ayw, adr ve ayr olmak üzere 4 majör subtipi ve w determinanı antijenik olarak heterojen olduğu için 10 serotipi bulunmaktadır. "a" determinantındaki mutasyonlar sonucu kaçak (escape) mutant viruslar oluşabilmektedir. P geni, DNA polimeraz (revers transkriptaz) ile ribonükleaz aktivitesine sahip 90000 daltonluk temel polipeptidi kodlar. X geni, karaciğerde saptanan, replikasyonda görevli ve yapısal olmayan 154000

aminoasitlik X proteinini kodlar. PreS2 proteini virusun hepatosit reseptörlerine tutunmasında fonksiyon görür (43,44).

Bütün dünyada yaygın olarak görülen HBV'ye bağlı akut hepatitin ortalama % 5'inin kronikleştiği ve bunların önemli bir bölümünün siroza dönüştüğü; sirozlu olguların ise hepatosellüler karsinom gelişme riskinin oldukça yüksek olduğu bilinmektedir (45). Bugün dünyada 400-500 milyon taşıyıcı bulunduğu düşünülmektedir (45,46).

HBV; infekte kan veya vücut salgıları ile parenteral temas, cinsel temas, infekte anneden yeni doğana bulaşma (perinatal vertikal), infekte kişilerle cinsellik içermeyen yakın temas (horizontal) olmak üzere dört ana yolla bulaşmaktadır (47,48).

Hepatit B'nin inkübasyon dönemi 4 - 28 hafta olarak tespit edilmiştir, fakat bu süre ortalama 60-180 gündür (49). Viral hepatitler asemptomatik infeksiyondan, karaciğer yetmezliği ve ensefalopatinin eşlik ettiği ve mortalitenin yüksek olduğu fulminan hastalığa kadar değişen farklı klinik tablolar göstermektedir (42,44,50).

Hepatit B infeksiyonunun patogenezi çok komplekstir. HBV hepatotoksik değildir. Kronik HBV taşıyıcılarının çoğunda, serumda yoğun virus partiküllerinin bulunmasına karşın karaciğer hastalığının bulunmaması, virusun hepatotoksik olmadığı görüşünü desteklemektedir. Karaciğer parankim nekrozundan sitotoksik T hücreler ve NK hücreler sorumludur. Hepatosit nekrozu, doğrudan hepatit B virusuna veya hepatosit yüzeyinde eksprese olan membran antijenlerine karşı T hücre sitotoksik yanıtı sonucu oluşabilir. Kronik B hepatitinde HBsAg'nin preS2 bölümü, karaciğeri infiltre eden T hücrelerinin hedefidir (43,44).

Serumda HBsAg'nin varlığı akut yada kronik HBV infeksiyonunu gösterir. Akut HBV infeksiyonunda ALT düzeyi yükselmeden 2-4 hafta ve klinik belirtilerin veya sarılığın ortaya çıkmasından 3-5 hafta önce HBsAg kanda saptanabilir. Akut HBV infeksiyonunun varlığında HBsAg pozitifliğinin süresi değişkendir, 6 aydan fazla devam etmesi kronikleşmenin göstergesidir. Serumda HBV-DNA olumluluğu HBsAg olumluluğundan önce saptanır. Anti HBcIgM sıklıkla ALT düzeyinin yükselmeye başlamasıyla pozitifleşir ve hastalığın başlangıcından 4-8 ay sonra serumda tespit edilemez. Sebati olması hastalığın kronikleşeceğinin işaretidir. Anti HBc IgM'nin yüksek titreleri (1/1000) akut infeksiyon delilidir. Bu yüksek titre, akut

infeksiyonun iyileşmesi veya kronikleşmesi ile düşer. Kronik B hepatitli olguların yaklaşık %5-15'nin serumlarında, özellikle reaktivasyon döneminde Anti HBcIgM'nin pozitifleşebileceği unutulmamalıdır (42,44,49).

Klinik olarak hasta kişilerde HBsAg olumluluğundan hemen sonra, kural olarak total anti-HBc de pozitifleşir. Bu yönü ile anti HBc pozitifliği HBsAg olumluluğunun da doğrulamasıdır. Uyumsuz durumlarda testlerin tekrarlanması gereklidir. Akut B hepatitli (özellikle fulminan hepatit) olguların %5-10'unda ve daha sık olarak erken konvelesan evrede serumda HBsAg saptanmayabilir. Bu dönemde total anti HBc veya anti HBc IgM araştırılması da yol göstericidir (pencere dönemi)(44).

Kronik B hepatitli bir kişide HBV replikasyonunu ve bulaştırıcılık düzeyini saptamak amacı ile HBeAg, antiHBe ve HBV-DNA markırları (belirleyici) araştırılabilir. HBeAg pozitif bir serum, anti HBe pozitif seruma göre belirgin olarak daha yüksek miktarda HBV içerir. Dolayısıyla HBeAg pozitif kişiler cinsel ilişki ile, perkütan yol ile ve perinatal olarak infeksiyonu daha kolay bulaştırmaktadırlar. HBeAg, HBsAg'den kısa bir süre sonra pozitifleşir, 10 haftadan daha uzun süre devam etmesi infeksiyonun kronikleşeceğinin belirtisidir. Anti HBe düşük infektivitenin ve hastalığın tamamen iyileşeceğinin güçlü bir göstergesidir ve akut infeksiyondan yıllar sonra kaybolur. HBV-DNA viral replikasyonun en sensitif göstergesidir ve viremi düzeyini ortaya koyan en iyi markırdır ve serum transaminaz düzeyleri ile korelasyon göstermektedir (41,49).

Dünya üzerindeki ülkeler HBV infeksiyonunun görülme sıklığına göre 3 gruba ayrılmaktadır (35,42,44,47):

- 1)Prevalansın yüksek olduğu ( kronik HBV infeksiyonunun % 8'den fazla görüldüğü) ülkeler; Uzak ve Orta Doğu ülkeleri ile Afrika.
- 2)Orta derecede endemik ülkeler ( kronik HBV infeksiyonunun %1- 8 arasında görüldüğü) ; ülkemizle birlikte Akdeniz'e kıyısı olan Avrupa ülkeleri ve Orta Amerika ülkeleri. Erişkinlerin %20-60'ında anti HBsAg pozitifliği mevcuttur.
- 3)Düşük endemik ülkeler ( kronik HBV infeksiyonunun % 1'den az görüldüğü) ; ABD, Avusturalya ve Kuzey Avrupa ülkeleri.

Kronik HBV infeksiyonunda alfa interferon tedavisi uygulanmaktadır. Bunun dışında lamivudin ve fansiklovir tedavilerinde yararı görülmüştür. Antiviral

(interferon) tedavi etkinliğinin saptanmasında HBeAg/anti HBe serokonversiyonu, olması istenen serolojik değişimdir. HBV'ye karşı korunmada bulaşma zincirinin kırılması dışında; rekombinant gen teknolojisi ile üretilen ve HBsAg veya HBsAg+PreS2 proteinlerini içeren aşı formları mevcuttur. Ayrıca HBV ile karşılaşma öncesi ve sonrası korunmada kullanılabilecek HBV hiperimmünglobülini (HBIG) de mevcuttur.

### **Hepatit C Virus (HCV)**

Hepatit C virusu(HCV)'nin neden olduğu C tipi viral hepatit, dünyanın başlıca sağlık problemlerinden biridir. Transfüzyon sonrası gelişen ve toplumda sporadik olarak görülen non-A non B hepatitlerinin en önemli etkenidir. Virusun varlığı ilk kez 1988 yılında non-A non-B hepatitli insan kanları ile infekte edilen şempanzelerin plazmalarından klonlanarak ortaya konmuştur (51).

HCV 40-50 nm büyüklüğünde, lipit zarf taşıyan küçük bir virustur. HCV'nin genomu, yaklaşık 9700 baz uzunluğunda, tek zincirli, pozitif sens bir RNA molekülüdür. Tek bir open reading frame (ORF) içerir. Bu ORF bölgesinde; C(p21/22), E1(gp35), E2(gp70) ve p7 olarak isimlendirilen dört yapısal, NS2, NS3, NS4A, NS5A ve NS5B olarak tanımlanan altı adet yapısal olmayan proteini sentezleyen gen bölgesi yer alır. E1 ve E2 ürünleri kılıf glikoproteinleridir. Yapısal olmayan bölgede sırasıyla, proteaz ve helikaz aktivitesine sahip p23 ve p70/62; NS4A ürünü, kofaktör rolü oynayan p8/10 ve nihayet NS5A ve NS5B ürünleri olan replikaz ve polimeraz etkinliğine sahip p56/58 ve p68/70 proteinleri yer almaktadır (7,52). Genom özellikleri en çok Flaviviruslara benzemekte ve bu grupta Hepacivirus cinsi adı altında yeni bir grupta yer alması önerilmektedir (51,52).

Virusun; hücreye bir hücre yüzey molekülüne bağlanarak girdiği düşünülmekte ve bu molekülün de CD81 molekülü olduğu sanılmaktadır (53). Flaviviruslar ve Pestiviruslar gibi bir negatif (-) aracı RNA'nın replikasyonda rol oynadığı düşünülmektedir. Bu "negatif" RNA molekülü gerek karaciğer hücrelerinde gerekse serumda saptanmıştır (54).

Birçok RNA virusunda olduğu gibi HCV'nin de genom düzeyinde değişkenliği fazladır. En hızlı değişen bölgeler E1 ve E2 bölgeleri ve en az değişen bölgelerin ise 5' NCR ve kor bölgeleri olduğu saptanmıştır. Tüm genom dizileri

belirlenmiş HCV suşları incelendiğinde, DNA ya da protein dizisi benzerlikleri göze çarpmış ve bunlar grup ve alt gruplar halinde sınıflandırılmış ve çeşitli genotiplerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Şu anki bilgilere göre en az 6 temel HCV genotipi ve yüzden fazla subtip bulunmaktadır (55). Bazı HCV tipleri (1a, 1b, 2a, 2b, 3a) tüm dünyada yaygın olarak bulunurken bazı tipler belirli coğrafik bölgelerde daha sıktır (56). Türkiye’de HCV infeksiyonlarının yaklaşık %75’i tip 1b ile oluşmaktadır (52,57).

HCV infeksiyonlarında ortalama 6-8 haftalık bir kuluçka döneminden sonra akut hepatit gelişir. Akut C hepatiti çoğunlukla belirtisizdir. Hepatit C infeksiyonu oldukça yavaş ilerleyici bir hastalıktır. İnfekte hastaların %15’i spontan iyileşme gösterir, ilave %25’i normal aminotransferaz düzeyleri ve sebat eden histolojik lezyonlarla seyrederek, yaklaşık % 20’sinde 10-20 yıl arasında karaciğer sirozu yaklaşık % 80’ninde ise kronikleşme görülebilmektedir (58).

HCV’nin temel bulaşma yolu parenteraldir. Ayrıca tükürük, idrar ve semen gibi vücut sıvılarında virusun bulunması, yakın temas ve cinsel ilişki gibi yollarla da bulaşın olabileceğini düşündürmektedir. HCV infeksiyonunun risk faktörleri arasında kontamine kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu, damar içi uyuşturucu kullanımı, hemodiyaliz, tatuaj, yüksek riskli cinsel davranışlar, cerrahi operasyon öyküsü, kontamine iğnelerin batması ve HCV pozitif vericilerden yapılan organ transplantasyonları sayılabilir (7). Ne var ki, HCV ile infekte hastaların %40 ile 50’sinde bilinen risk faktörlerinin herhangi biri tanımlanamamaktadır (59).

HCV infeksiyonu tüm dünyada yaygın olmakla birlikte seroepidemiolojik veriler prevalansın bazı ülkelerde daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bazı Afrika ve Orta Doğu ülkelerinde %4-6 gibi yüksek değerlere ulaşan prevalans; Akdeniz ülkeleri, ABD’nin güney eyaletleri ve Japonya’da %0.5-1.5; Kuzey Avrupa ve Amerika’da %0.01-0.05 dolayındadır (7,51). Türkiye’de kan donörlerinde anti-HCV sıklığı %0.3-1.8 arasında değişmektedir (40,59).

HCV’nin tanısında en pratik yöntem, ELISA ile anti-HCV antikorlarının aranmasıdır. Bu testlerde serokonversiyon oluşumu yaklaşık 6-8’inci haftalarda olmakta ancak immün sistemi baskılanmış bireylerde bu süre gecikebilmektedir. Diğer önemli bir problem ise, yalancı pozitifliklerin görülebilmesidir. Bu nedenle, HCV’nin farklı bölgelerinin her bir antijenine karşı oluşmuş antikorları ayrı ayrı

saptayabilen immüno blot testleri (RIBA= rekombinant immüno blot assay) doğrulama testi olarak kullanılabilir. Ancak bu testlerin duyarlılığının ELISA'dan daha az olması ve belirsiz (indeterminate) sonuçların görülmesi doğrulama için, moleküler testlere yönelmesine neden olmuştur (51). Moleküler testlerden, virus RNA' sının revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) testi ile gösterilmesi en çok kullanılan yöntem olup, bunun dışında yine bir "hedef çoğaltma" yöntemi olan NASBA ve bir "sinyal çoğaltma" yöntemi olan branched-DNA yöntemi, HCV'nin tanısında yerini alan yöntemlerdir (60). HCV viremisinin genellikle çok düşük düzeyde ( $10^2 - 10^4$  virus partikülü/ml) olması; PCR ile tanıda, PCR yapıldıktan sonra mutlaka sıvı ya da katı fazda hibridizasyon yapılarak duyarlılık artırılmakta veya ikinci bir PCR (nested-PCR) yapılması gerekmektedir. PCR ile HCV enfeksiyonu, bulaşmayı izleyen ilk 3-10 gün içinde saptanabilmektedir. Kantitatif PCR metotları ile ise, serum HCV RNA miktarı tayini; hastalığın prognozu ve tedavi hakkında bilgi edinilmesi bakımından yarar sağlamaktadır (41,60).

İnterferon alfa HCV enfeksiyonlarının tedavisinde en yaygın kullanılan ajandır. Tedavi etkinliğini izlemek için en uygun yöntem HCV RNA düzeylerinin ölçümüdür. Tedaviye yanıt veren hastalarda HCV RNA tedavinin 1-4'üncü haftalarında negatifleşir. Son yıllarda denenen diğer bir ilaç ise ribavirindir. Kombine olarak kullanılması önerilmektedir (61).

### **Hepatit D virusu (HDV)**

Hepatit Delta virusu (HDV) ilk defa 1977 yılında Rizzetto ve arkadaşları tarafından keşfedildi. Önce bunun hepatit B virusu enfeksiyonunun bir formu olduğu düşünülmüş, ancak HBV'li hastaların nükleuslarında gösterilen delta ajanının şempanzelere aktarılması ile ayrı bir ajan olduğu anlaşılmıştır (44,62).

HDV, enfeksiyon etkeni olarak HBV ile anlam kazanmaktadır. HBV'den tamamıyla farklı olan bu virus enfeksiyon için HBV'ye ihtiyaç duymaktadır. HDV'nin yüzeysel proteinleri HBV'nin yüzey antijenlerinden oluşturulduğundan, bu virusa defektif virus da denmektedir (42,44,48). HDV virion partikülleri yaklaşık 36 nm çapında RNA genomu ve HDAg ile bunu kuşatan HBsAg'den oluşmuş bir kılıfa

sahiptir. HDV sirküler, negatif tek iplikçikli, 1700 nükleotidli RNA genomuyla, tanımından da anlaşıldığı gibi en küçük genomuna sahip hepatit virusudur (48,62).

HDV hepatit B virusu ile birlikte koinfeksiyona veya HBsAg taşıyıcı kişilerde sonradan eklenerek süperinfeksiyona neden olur. Koinfeksiyon ve süperinfeksiyonun klinik formları birbirinden farklılık göstermez, fakat uzun dönem etkileri açısından farklılıklara sahiptirler. İnfeksiyonun inkübasyon süresi 2-7 hafta (ortalama 35 gün) arasında değişmektedir. Akut HDV enfeksiyonu, diğer hepatit viruslarının yaptığı klinik tablolara benzerlik göstermektedir. Sıklıkla bifazik seyir gösterir yani, transaminazlarda 2-5 hafta ara ile iki defa yükselme gösterilebilir ki, birinci yükselme HBV, ikinci yükselme HDV enfeksiyonuyla ilişkilidir. Bu bifazik seyir süperinfeksiyonda görülmez. Süperinfeksiyonun koinfeksiyondan en önemli farkı daha sık kronikleşme ve siroz görülmesidir. Akut delta hepatitinde mortalite %5-20 arasında değişmektedir (63).

Enfeksiyon kaynakları ve geçiş şekli HBV ile benzer olmasına rağmen dünyadaki dağılım ve bulaş oranları farklıdır. Dünyadaki yaklaşık 300 milyon HBsAg taşıyıcısının %5'inden azının HDV ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizdeki yapılan çalışmalarda HDV prevalansı asemptomatik HBV taşıyıcılarında %0.9-16.2, akut HBV enfeksiyonlarında %2.5-21.8 ve kronik karaciğer hastalıklarında %9-51.7 olarak bildirilmektedir (40,44,48,64).

HDV enfeksiyonunun tanısında HDV-Ag ve anti HDV serolojik testlerinden yararlanılmaktadır. Ancak antijenlerin kısa süreli ve düşük titrede ortaya çıkması; spesifik antikorların ise yeni ve geçirilmiş enfeksiyonu ayırmada yetersiz kalması, HDV RNA'sının araştırılmasını önemli kılmaktadır. Çünkü HDV enfeksiyonlarında HDV RNA tespiti enfeksiyonun durumu hakkında aydınlatıcı bilgi vermektedir. Örneğin HDV enfeksiyonlarında HDV RNA'nın negatifleşmesi, enfeksiyonun iyileştiğini göstermektedir (41,63).

Alfa interferon ile yüksek doz ve uzun süreli tedavi uygulanması remisyon sağlayabilmektedir. HBV aşısının uygulanması ile hem HBV hem de HDV enfeksiyonundan korunma sağlanabilmektedir (48,65).



### Hepatit E Virusu

1980'lerin başlarında yapılan çalışmalarda, enterik yolla bulaşan non-A non-B hepatitlerinin, hepatit E virusu(HEV) olarak bilinen yeni bir hepatit virusu ile oluştuğu gösterilmiştir (66,67). HEV ilk defa 1983 yılında, enterik yolla bulaşan non-A non-B hepatitli olguların dışkı örneği filtratlarının maymunlara deneysel olarak damar içi yolla verilmesi ile oluşturulan enfeksiyon modelinde tanımlanmıştır (68).

HEV viryonlarının yaklaşık 32-34 nm çapında, zarfsız, sferik partiküller olduğu gösterilmiştir. Etken tek iplikçikli yaklaşık 7,5 kilo baz (kb) uzunlukta, pozitif polariteli RNA genomuna sahiptir ve 3' ucunda çok sayıda adenin (polyA) içermektedir. Viral genom, enfeksiyon esnasında ekspere olan en az üç open reading frame (ORF= açık okuma bölgesi)den oluşmaktadır. ORF-1 en büyük parça olup, genomun 5' ucunda, yaklaşık 1690 aminoasitten oluşan büyük bir proteini kodlar. Bu protein, yapısal olmayan ve virus replikasyonu için gerekli olan RNA'ya bağımlı RNA polimeraz, helikaz ve metil transferaz gibi proteinlere parçalanmaktadır. ORF-2 genomun 3' ucuna yerleşmiş ve 1980 baz uzunluğundadır. Kapsid proteinine benzeyen bir protein kodlamaktadır. ORF-2'nin tamamıyla ekspere olması halinde kapsid proteini yanında 56,5 kDa ağırlığında çözünebilir bir protein de oluşmaktadır. Bu protein, anti-HEV antikorlarının gösterilmesinde oldukça aktif bir antijendir ve immünizasyonda kullanabileceği konusunda umut vermektedir. ORF-3 ise, ORF-1'in ucundan başlar ve 123 aminoasit kodlayan en küçük parçadır. ORF-3'ün işlevi kesin olarak bilinmemekle birlikte, bu bölgenin hasta serumlarındaki antikorlarla tepkime veren tiplere özgül nötralizan epitoplara kodladığı yönünde bilgiler vardır. ORF-1 içindeki 2011-2325 baz arasında kalan alan en fazla değişiklik gösteren bölgedir (66). Bu değişiklikler sonucunda virusun biri Asya, diğeri Meksika olmak üzere en az iki genotipi oluşmuştur. Son zamanlarda birde ABD tipinin de olduğu ispatlanmış ve 3 genotipinin bulunduğu belirtilmektedir (66,67,69).

HEV, morfolojik ve biyofiziksel özellikleri ile Caliciviridae içerisinde heparnavirus cinsinin tek üyesi olarak önerilmiştir (70).

İnkübasyon süresi 15-60 (ortalama 40) gündür. Klinik bulgular akut viral hepatitin diğeri formlarına benzemektedir. Hastalığın seyri orta şiddette olup çoğunlukla kendiliğinden geçmektedir. Fatal fulminan hepatit %1-2 gibi düşük

oranda gelişmektedir. Ancak, özellikle hamileliğin üçüncü ayındaki gebelerde, fulminan hepatit yaygındır ve bu grupta %14-20 gibi yüksek ölüm oranı gözlenmektedir (66,67,69).

Gelişmekte olan ülkelerde HEV enfeksiyonu yaygın (%8-17) olmakla birlikte, Avrupa ve Amerika'da enfeksiyon endemik olmadığından seroprevalans % 2 civarındadır (71). Ülkemizdeki seroprevalansı bölgelere göre farklı olmak üzere %3-11.7 arasında değişmektedir (72-75). Ülkemizde akut viral hepatitlerin % 4-19.5'inden HEV sorumlu tutulmaktadır (66,71).

Tanıda anti-HEV IgM ve IgG antikorlarını ölçen serolojik testler ile moleküler yöntemler kullanılmaktadır. İmmün elektron mikroskopisi, dışkıda virus partiküllerini araştırmada kullanıldığı gibi antikor taramada da kullanılmaktadır. IgM antikorları hastalığın akut fazı süresince daha yüksektir ve genellikle hastalığın başlangıç döneminde alınan serumlarda bulunur, yaklaşık 1-2 ay içerisinde de kaybolur. IgG antikorlarının kalış süresi kesinlik kazanmamıştır. Bazen bu antikorlar 6-12 ay içerisinde kaybolurken, bazen de daha uzun süre tespit edilebilmektedir (66,67,69). RT-PCR, tanı yanında hastalığın klinik seyrini takip etmede de kullanılabilir faydalı bir yöntem olduğu bildirilmektedir (41).

Etkili spesifik anti viral tedavi yoktur. Sanitasyon ve hijyen koşullarının düzeltilmesi, yiyecek ve içeceklerin dışkı ile kontaminasyonunun önlenmesi ve suların etkin dezenfeksiyonu enfeksiyon zincirinin kırılmasında en önemli korunma yollarıdır (66,67).

Tablo 1. Viral Hepatitlerle İlgili Kronolojik Gelişmeler (3)

- 
- 1887 Nedeninin infeksiyöz olabileceği Weil tarafından gündeme getirilmiş; etkenin virus olabileceği bu yüzyılım başında Mc Donald tarafından ileri sürülmüştür.
- 1947 Epidemiyolojik özelliklerine göre epidemik hepatit ve serum hepatiti Mc Callum'un önerisiyle hepatitis A ve hepatitis B olarak isimlendirilmiştir.
- 1950 Karaciğer iğne biyopsisinin yaygın olarak kullanılmaya başlamasıyla asemptomatik ve kronik olguların özellikleri hakkında bilgi edinilmiştir.
- 1955 Transaminazlardan AST ve ALT karaciğer hasarını göstermeleri nedeniyle vazgeçilmez testler olmuştur. Birbirlerine oranının etiolojinin saptanmasında önemi belirtilmiştir.
- 1957 Hayvan modelleri, patogenezin aydınlatılmasında, identifikasyonunda ve aşı çalışmalarında inkar edilemez yararları olmuş. Marmosetler, şempanze ve cynomolguslar kullanılmıştır. Şempanzeler bilinen 5 hepatit virusuna duyarlıdır.
- 1960 Krugman, iki virusla infekte hastanın isminin baş harflerini kullanarak etkenleri; fekal oral geçişli olana MS-1, parenteral geçişli olana MS-2 adlarını vererek çalışmaların anlaşılmasını sağlamış, sonuçta birine karşı gelişen bağışıklığın diğeri için koruyucu olmadığı ortaya konulmuştur.
- 1963 Blumberg ve arkadaşları, Avustralyalı bir hastada etkene ait bir antijen bularak bunu Au-Ag olarak adlandırmışlar ve daha sonra bunun HBV'nin yüzey antijeni olduğu anlaşılarak HbsAg olarak adlandırılmıştır.
- 1970 Dane, 42 nm.lik komplet virionları göstermiştir ve adıyla anılmaktadır. Rizetto ve arkadaşları delta antijenini bulmuşlardır.
- 1973 Feinstone ve arkadaşları, dışkıda hepatit A virusunu gösterdiler.
- 1974 HbcAg, DNA polimeraz ve bunu takiben HBV DNA tanımlanmıştır.
- 1980 HAV ve HBV dışında kalan etkenlerin varlığı gündeme gelince bunlar NANB olarak adlandırılmış Ancak bunların homojen bir grup olmadığı gözlenmiş en az üç ayrı etken olduğu düşünülmüştür. Parenteral yolla bulaşan NANB, klonlanan antijen ile taranarak HCV olarak isimlendirilmiştir.
- 1983 NANB hepatitlerin fekal oral yolla bulaşan ve özellikle gebelerde yüksek mortalite ile seyreden formunda hastaların dışkısında 27-30 nm.lik partikül gösterilmiş ve karşı antikörleri de saptanarak virus HEV olarak isimlendirilmiş ve klonlanmıştır.
- 1987 Delta antijeninin HBV'ye ait olmayıp inkomplet bir virus olduğu belirlenerek HDV olarak isimlendirilmiş ve klonlanmıştır.
- 1994 Tüm teknik imkanlara rağmen NANB olgularının % 10-20'sinde etken saptanamaması başka etkenlerin olabileceği kuşkusunu çıkarmaktadır. Togavirus benzeri partiküllerin saptandığı non A-E olgularının etkeninin HFV olarak isimlendirilmesi önerilmiştir.
- 1995 Parenteral yolla bulaşan, kronikleşmeye neden olan 2 virus, genomun klonlanması ve immünolojik tarama testleri ile gösterilmiştir. Bunlardan ilki GB virusu olup, 3 farklı genotipi ortaya konulmuştur (GBV-A, GBV-B, GBV-C). İkincisi ise kronik hepatitli hastalardan klonlanmış olan virus HGV olarak isimlendirilmiş ve bunun GBV-C ile özdeş olduğu gösterilmiştir.
- 1997 Japonya'da etyolojisi bilinmeyen akut posttransfüzyon hepatitli bir hastanın serumundan izole edilen virus, hastanın isminin baş harflerini alarak TT virus ismi verilmiştir (transfüzyon transmitted anlamında da kullanılmıştır).
-

## HEPATİT G VİRUSU (HGV)

### HGV'nin keşfi

Abbott Laboratuvarları virus keşif grubu, nisan 1995'te Washington'da yapılan bir toplantıda, geçici olarak "GB virusları" olarak adlandırdıkları kan yoluyla bulaşan 3 yeni viral ajanın identifikasyon ve kısmi karakterizasyonunu yaptıklarını duyurmuşlardır (1,12,76).

GB virusları ile ilgili ilk bilgiler 1960'lı yıllara dayanmaktadır. 1964 yılında hepatit geçiren 34 yaşındaki Şikago'lu bir cerrahın (adının baş harfleri G ve B ) sarılığının 3. gününde alınıp saklanan serum örnekleri, daha sonra küçük bir Güney Amerika maymunu olan tamarinlere (*Saguinus labiatus*) inoküle edilip, seri olarak pasajlanmıştır (77). Deinhard tarafından gerçekleştirilen bu çalışma ile (1969) viral hepatit, ilk kez insanlardan primatlara geçirilmiş; GB serumu inoküle edilen hayvanlarda hepatit geliştiği gibi, bu tamarinlerin serumlarının inoküle edildiği hayvanlarda da hepatit geliştiği gösterilmiştir (1,2,78).

Bu serum örnekleri daha sonra HAV ve HBV için test edilmiş fakat serolojik olarak markır tespit edilemediği için olgu NANB hepatit olarak adlandırılmıştır. Takip eden çalışmalarda, tamarinlerin GB serumunun inokülasyonundan sonra açık biçimde hepatit geçirmiş olmasına rağmen, seri pasajların yapıldığı hayvanlarda da hepatite neden olan ajanın, insan kaynaklı olup olmadığı sorgulanmıştır. Ek pasaj ve çapraz bulaştırma deneylerinden sonra GB ajanının HAV, HBV, HCV, HDV ve HEV'lerinden farklı bir virus olduğu sonucuna varılmıştır (12,79).

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction = PCR ) ve moleküler klonlama imkanları gibi duyarlı yöntemler bulununcaya kadar, GB virusunun tespiti yapılamamış, ancak moleküler tekniklerle kesin olarak doğrulanması mümkün olmuştur.

Simons ve arkadaşları, 11. pasajda infeksiyöz tamarin serum havuzunda özgün nükleotid sekanslarını selektif biçimde çoğaltan özel bir yöntem (Representational difference analysis =RDA) kullanarak, Flavivirus RNA'larının özelliğini taşıyan iki RNA molekülünü komplementer DNA (cDNA) olarak tespit edip, klonlamışlardır. Bu RNA viruslarına geçici olarak GBV-A ve GBV-B adları verilmiş; her iki virusun HCV ve diğer Flavivirus genomlarına benzer bir

organizasyon gösterdiği ve birbirleri ile ve HCV ile sınırlı bir nükleotid dizi homolojisine sahip oldukları belirtilmiştir (1,2,80,81).

Abbott grubu GBV-A ve GBV-B rekombinant proteinlerinin kullanıldığı bir ELISA geliştirerek; gönüllü Amerikan kan donörleri, intravenöz ilaç bağımlıları ve hepatitin yaygın olduğu Batı Afrika'daki bir popülasyonda, insan serumlarının taranmasında kullanmışlardır. Reaksiyon veren serumlar GBV-A, GBV-B ve HCV-1'in paylaştığı ortak sekanslardan türetilen üniversal primerler kullanılarak Revers Transcription PCR (RT-PCR) ile çalışılmıştır. Batı Afrikalı bir örnekte başka bir virusa ait olabilecek bir nükleotid dizisi elde edilmiştir. Helikaz bölgesine ait sekans analizinde GBV-A, HCV-1 ve GBV-B sekansları ile sırasıyla %59, %53 ve %48 benzerlik bulunmuş, bu ajana ayrı bir virus olarak GBV-C adı verilmiştir. GBV-C orijinal tamarin serum havuzunda saptanamamıştır. GBV-C virusunun daha sonra tüm genomik sekansları tanımlanmıştır (80,82,83).

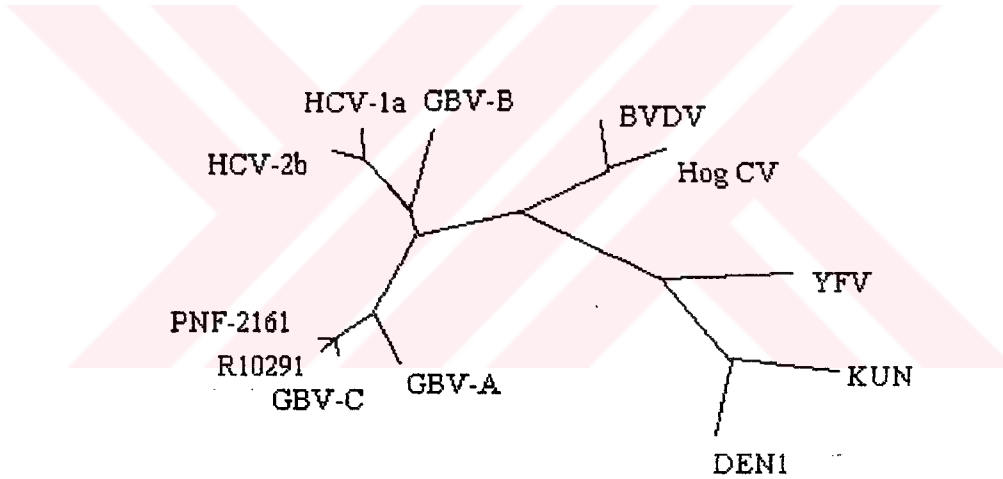
GB viruslarının genomik sekanslarının kendi aralarında ve HCV ile benzerlikleri söz konusu olmasına rağmen, üç GB virusu ve HCV sınırlı oranda nükleotid sekans benzerliği göstermektedir. GBV-A, GBV-B ve GBV-C'nin, HCV'nin genotipleri olmadıklarını, bu genomik sekansların filogenetik analizini de içeren bir dizi çalışma ile ortaya konulmuştur (83).

GBV-A ve GBV-B insanlarda tespit edilemeyip, tamarinlerde bulunmuş ve GBV-A'nın karaciğerde replike olmadığı, GBV-B'nin ise tamarinlerde hepatite neden olduğu gösterilmiştir. Bu iki ajanın da, ismini aldığı hasta olan G.B.'de hastalığa yol açan ajan olup olmadığı ispatlanamamıştır (84). GBV-C'nin ise insan virusu olduğuna inanılmaktadır (4-9).

Aynı tarihlerde Genelabs Laboratuvarı araştırma grubu, hepatitlere neden olabilecek başka bir ajan tespit etmek amacıyla, Center for Disease Control (CDC) tarafından tanımlanan NANB hepatitli bir hastanın plazmasından moleküler klonlama yapmışlardır. Ancak bu hastanın daha sonra anti-HCV ve PCR ile yapılan testlerinde HCV ile infekte olduğu anlaşılmıştır. Bu hastanın serumundan elde edilen nükleik asitler (PNF-2161) vektör görevi yapan E.coli'ye klonlanmıştır. Bu klonun yeni kodlanmış 203 nükleik asitlik bir sekans içerdiği bulunmuştur. Klon bir prob olarak kullanılıp, varsayılan RNA virus zinciri, anchor PCR ile çoğaltılmıştır. PNF-2161 izolatından elde edilen primerler kronik non A-E hepatitli bir kişinin

identifikasyonunda kullanılmıştır. Daha sonra bu izolat klonlanmış ve sekans analizi yapılmıştır (1,80,82). Sonuçta iki hastanın plazma örneklerinde kendi aralarında %90.5 nükleotid, %97.5 aminoasit sekans benzerliği gösteren viral genomik diziler elde edilmiştir ve yeni tanımlanan bu virus 1994 yılında Hepatit F virusu (HFV) olarak adlandırılan başka bir virus bildirildiğinden, bu yeni virus Hepatit G virusu (HGV) olarak adlandırılmıştır (1).

HGV poliprotein analizinde GBV-A ile %43.8, GBV-B ve HCV-1 izolatları ile sırasıyla %28.4 ve %26.8 homoloji bulunmuştur (82). RNA'ya bağlı RNA polimeraz bölgesinde ve helikaz bölgelerinde ise GBV-A ile %60, GBV-B veya HCV ile de %40-50 homoloji bulunmuştur. HGV ile GBV-C'nin NS3 (helikaz) bölgesinin analizinde %85.5 nükleotid, %100 aminoasit homolojisi bulunmuştur (12,77,80,82).



Şekil 1 : HGV'nin filogenetik analizi (12)

GBV-C ve HGV nükleotid dizilerinde %86, aminoasit dizilerinde ise %96 homoloji bulunmuştur. Bu bulgulara dayandırılarak bu iki virus, aynı virusun farklı izolatları olduğu kabul edilmiş ve HGV/GBV-C isimlerinin birlikte kullanılması uygun görülmüştür. Hepatit G virus genomunun ve kodlanan poliproteinlerin karşılaştırmalı sekans analizleri sonucunda, HGV nin Flaviviridae ailesine ait HCV, GBV-A ve GBV-B viruslarının da içinde bulunduğu yeni bir grup olarak sınıflandırılmıştır. HGV nin filojenik analizi şekil 1' de, Flaviviridae ailesi içindeki diğer viruslarla gen dizisi benzerlik oranları Tablo 2' de gösterilmiştir (12).

Tablo 2 : Flaviviridae Ailesi İçindeki Hepatitle İlişkili Virusların Benzerlik Oranları (12)

	HGV	HCV	GBV-A	GBV-B	GBV-C	YFV	DEN 1
HCV	24.9						
GBV-A	44.5	24.0					
GBV-B	25.3	28.7	23.4				
GBV-C	94.7	25.5	44.3	25.3			
YFV	14.9	14.2	14.6	13.0	14.9		
DEN 1	14.9	13.9	13.3	13.8	14.9	45.1	
HoCV	16.1	17.1	15.4	16.9	16.0	15.3	15.8

\* YFV: Yellow fever virus, DEN 1 : Denque virus, HoCV : Hog kolera virus

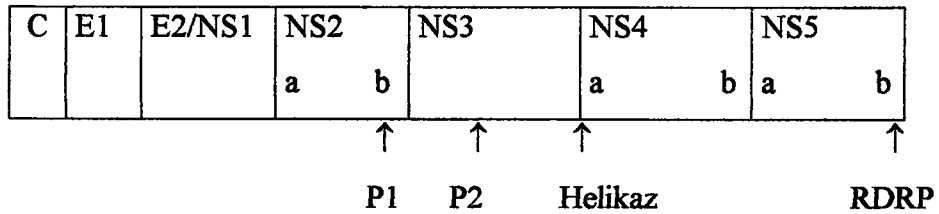
### Genel Özellikleri

Hepatit G virusu, flaviviridae ailesinde sınıflandırılan zarflı, ikozahedral simetrik tek iplikçikli pozitif polariteli bir RNA virusudur. Genomu 9400 nükleotid uzunluğunda olup uzun bir ORF (Open Reading Frame) bölgesine sahiptir (7,80). Yapılan moleküler çalışmalarla HGV nin yapısal ve yapısal olmayan proteinlerini kodlayan gen dizileri ve lokalizasyonları belirlenmiş ve gen haritası çıkarılmıştır (80,85). Moleküler analizler HGV genomunun, 5' ucunda yapısal genlerin (NS1, NS2, NS3, NS4 ve NS5) bulunduğunu ve NS2, NS3, NS5 bölgelerinde yüksek derecede korunmuş, yaklaşık 2900 aminoasitlik tek bir polipeptidi kodlayan diziler olduğunu göstermiştir. Genomun her iki ucunda kodlama yapmayan (noncoding) bölgeler bulunmuştur (şekil 2)(77,85-88).

Şekil 2. HGV'nin genomik organizasyonu (2)

5'UTR

3'UTR



P1: Zn proteaz

P2: Kimotripsin benzeri serin proteaz

RDRP: RNA bağımlı RNA polimeraz

HGV'nin 5' ucunda bulunan E1 ve E2 bölgeleri zarf proteinine uyumludur (86). 3' ucuna doğru yapısal olmayan proteinleri içerir; burada yüksek derecede korunmuş üç yapıdan birincisi, çinko proteaz NS2 bölgesinde, ikincisi helikaz ve kimotripsin benzeri serin proteaz NS3 bölgesinde ve üçüncüsü RNA'ya bağımlı RNA polimeraz NS5b bölgesinde bulunmaktadır. Flaviviridae üyeleri içinde çinko proteaz yapısı sadece HCV, HGV, GBV-A ve GBV-B'de bulunmaktadır. HGV NS3 bölgesi multifonksiyonel bir protein yapısında olup, serin proteaz ve RNA helikaz aktivitesi içermesinin yanı sıra son zamanlarda ATPase ve DNA helikaz aktivitelerinin bulunduğu da bildirilmektedir. NS3 bölgesinin RNA helikaz aktivitesini gösteren kısım; 904 ile 1580 aminoasitleri arasındaki bölgede lokalize edilmiştir (87). ATPase ait tipik aminoasit sekans motifleride bulunmuştur. RNA bağlanmasında 1383-1395 aminoasitleri arasında lokalize olan korunmuş V1 motifin (sekans dizilimi) önemli olduğu bulunmuştur (87).

HGV'nin 5' UTR bölgesinde 458 nükleotid bulunmakta ve bu virus için en iyi korunan bölgeyi oluşturmaktadır. İncelemeler sonucunda bazı kısımlarında değişiklikler olmakla birlikte bu bölge içindeki 4 adet korunmuş alanın viral replikasyon için gerekli yapıları içerdiği düşünülmektedir. Viral protein translasyonu ve genom replikasyonunu başlatma fonksiyonunun varlığı muhtemeldir. Viral translasyonun başlangıcını yöneten internal ribozomal binding alanı Poliovirus, Pestiviruslar ve HCV'nin 5' noncoding bölgesinde bulunmaktadır. 5' proksimal RNA poliovirusun yaşam siklusunda majör bir rol oynayabilmektedir. Ayrıca bu yapının Alphaviruslarda kapsid protein veya replikaz için sinyal tanıyabilme özelliğine sahip olduğu düşünülmektedir. GBV-C/HGV'nin 5' noncoding (kodlanmayan) bölgesinin de benzer özellikler göstermesi, viral gen ekspresyonu için GBV-C/ HGV'nin uyuşabilir (compatible)- cap bağımlı internal başlangıç mekanizmasını kullandıklarını düşündürmektedir. Viral poliproteininin başlangıç kodonu 32 aminoasit veya 96 nükleotid içermektedir (89).

HGV'nin 3' UTR bölgesi HCV'de bulunan aynı bölgeden daha uzundur ve 315 nükleotidden oluşan bu bölge HGV'nin en değişken bölgesidir (86). Yalnız daha patojen olduğu kesinlikle kabul edilen HCV'nin bu bölgesindeki değişkenliği daha da fazladır (86,89). HGV'nin kor proteini HCV kor proteininden daha kısadır. Ayrıca farklı izolatlarda HGV'nin poliprotein amino terminal ucunda kor proteininin kısa



olması veya hiç bulunmaması HGV'nin nükleokapsid olmayan partiküller ürettiğini düşündürmesine rağmen, in vitro translasyon sırasında sekans analizi uygulanarak translasyonda başlangıç kodon olarak tercihen bu bölgenin kullanılması ile mevcudiyeti açıklığa kavuşturulmuştur (85-87).

Yine Xiang ve arkadaşları, HGV partikül tiplerini karakterize edebilmek için, HCV ile infekte olan veya olmayan kronik infekte bireylerin plazma örnekleri alınarak, sukroz gradient santrifügasyon kullanılarak Sezyum kloritte isopycnic banding ve tuz dansite flotasyon santrifügasyon yöntemleri ile incelenmiştir. HCV'ye benzer şekilde HGV partikülleride, oldukça düşük virion partikülleri (1.07-1.09 gr/ml) ve yaklaşık 1.18 gr/ml nükleokapsid yapılarını içermektedir. Partikül tipleri arasındaki en önemli fark HGV'nin HCV'ye oranla Sezyum klorit içinde daha stabil olmasıdır (85). Kronik HGV infekte kişiler ve kontrol grubundan alınan serum örnekleri E1 proteinin kodlanan bölgesindeki korunmuş bölgeye spesifik HGV antikörlerinin varlığı, sentetik peptit temeline dayalı immünolojik metotlarla değerlendirilebilmektedir (90).

HGV poliproteinlerinin fonksiyonel olarak HCV'nin NS2, NS3 ve NS4a aktivitesine benzer proteaz aktivitesini kodladığı gösterilmiştir. Mutasyon analizi ile proteaz aktivitesi için esansiyel aminoasitler tespit edilmiştir. HGV'nin NS4a proteolizis bağlantılı NS3 için kofaktör olarak gösterilmiştir. *Leu* 1561 ve *Ala* 1598 arasındaki parça aktivite için kritik bölgedir. NS3 proteazının substrat spesifitesi dışında yapısal olmayan bölgedeki HGV poliprotein yapısı HCV'ninki ile oldukça yakın benzerlik göstermektedir (86).

Flaviviridae ailesindeki virusların çoğu 100 aminoasit uzunluğunda kapsid proteinler üretir. Oysa HGV'nin farklı izolatlarında, E1 bölgesinde kapsid kodlayan genlerin farklı olabileceği gösterilmiştir. Örneğin bu bölgenin kodladığı kapsid proteinleri PNF-2161 izolatında 34 aminoasit uzunluğunda iken, R-10921 izolatında 71 aminoasit uzunluğundadır. Ancak HGV zarf glikoproteinlerinin sentezinden sorumlu E1 ve E2 bölgelerinin analizi sonucunda, yüksek derecede değişken (hypervariable) bölgelerinin olmadığı ve HGV izolatlarındaki genomik heterojenitenin HCV'de saptanan heterojeniteden daha az önemli olduğu ifade edilmektedir (80,91).

### Genomik varyasyonlar ve genotipler

HGV'nin bir RNA virusu olması ve RNA viruslarının RNA polimeraz yanlışlıklarını düzeltme becerisindeki eksikliğinden dolayı önemli derecede genom varyasyonlarına sahiptir. Virus genomunun spesifik bir bölgesindeki bir sekans parçasının karşılaştırması temeline dayalı genotipleme metotları başta HCV olmak üzere birçok virus için kullanılmaktadır. HGV için 20 adet genomik sekans tanımlanması, HGV izolatları arasındaki genetik heterojeniteyi ve genotiplerin varlığını göstermektedir. Bu sekans yapısındaki heterojenite; genomun farklı bölgelerinden baz alınması, HGV ile infekte kişide zamanla meydana gelebilecek değişiklikler ve izolatların değişik bölgelerden alınmış olması ile açıklanmaya çalışılmıştır (3).

Muerhoff ve arkadaşları HGV'nin 5' noncoding bölge nükleotidleri baz alınarak yapılan filogenetik analizde en azından 3 majör GBV-C/HGV genotipi tanımladıklarını açıklamışlar ve başka araştırmacılar da yine 5' noncoding bölge analizi ile desteklemiştir (83,92). Bu bulgular genomun yapısal olmayan bölge analizi ve genomun tüm nükleotid sekanslarının karşılaştırılmasıyla doğrulanmıştır (93,94). Başka bir çalışmada, 5' UTR bölgesi analizi ile iki genotip olduğu bildirilmiştir (95). Viazov ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise; 14 farklı ülkeden elde edilen 42 HGV izolatının NS5 bölgesinden 354 nükleotidlik parçanın analizi ile, bu üç HGV genotipinin varlığı doğrulanamamıştır (96). Halbuki, 2 Amerikan, 1 Batı Afrika ve 3 Tayvan izolatının 5' noncoding bölge sekans analizinde; 2 Amerikan izolatları arasında tespit edilen %97'lik homoloji oranı, 3 Tayvan izolatı arasında da tespit edilmiştir. Ancak üç farklı coğrafik bölgeden gelen izolatlar arasında bu homoloji oranının %90 da kalması, 3 farklı tipin coğrafik dağılımı ile ilişkilendirilmiş ve izolatın bulunduğu ülkeye ait coğrafik dağılımla ilişkili sekans heterojenitesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (89).

5' UTR bölgesinde iyi korunmuş bölgelerin çokluğu ve az oranda değişken bölgelerin saptanması, bu bölgenin 5' terminal kısmının filogenetik sekanslama için kullanılabilmesi sonucuna varılarak, ilk etapta yapılan çalışmalar ışığında HGV en azından 3 tipe tanımlanmıştır (97,98). Bunlar ;

Subtip -1 : Batı Afrika,

Subtip –2 : Kuzey Amerika ve Avrupa,

Subtip – 3 : Asya

Subtip 2 Doğu Afrika, Japonya ve Pakistan gibi dünyanın değişik bölgelerinden zincir tiplerini içerebilir. Fakat bu coğrafik gruplama kesin değildir. Ayrıca subtip 2; 2a ve 2b olarak da ayrılmıştır (92). Daha sonra Lopez- Alcorocho ve arkadaşları İspanya’da, 5’ UTR baz alınarak yapılan subtip tayininde 2a ve 2b sekanslarına benzerliğine rağmen, hiçbir subtip benzemeyen 5 multipl transfüzyonlu hastadan elde edilen örnekleri; genotip 2 gibi sınıflandırarak, bu grup içinde yeni bir subgrup şeklinde, “subtip 2c” olarak isimlendirilmesini önermişlerdir (97).

Lui ve arkadaşları Kongo’da, HGV genomunun varsayılan E1 geninin 5’ NCR bölgesinden alınan 592 nükleotidlik kısmın filogenetik analizinde, genotip 1 içinde 4 subgrupun ortaya çıkarıldığını bildirmişlerdir (92).

Naito ve arkadaşları, HGV’nin 5’ UTR bölgesi baz alınarak yaptıkları filogenetik incelemede, Myanmar’dan 5 ve Vietnam’dan 3 örneği, bilinen 3 majör subtip ile uyuşturmamadıklarından, bunları genotip 4 olarak klasifiye etmişlerdir ve kendi sonuçları ile ilişkili olarak, HGV genomunun en azından 4 majör genotip içinde klasifiye edilmesini önermişlerdir (99).

Son zamanlarda ise Handajani ve arkadaşları Endonezya’da, viral genomun 5’ UTR bölgesi kaynaklı filogenetik analizinde, daha önceden rapor edilen yeni bir HGV genotipi eklendiğinden, yeni bir grup olarak genotip 5’i bildirmişlerdir. Grup 4 ve 5’in her birinin Endonezya’da %40 oranında bulunduğunu bildirip, HGV genotipinin en azından 5 majör tipe ayrılması gerektiğini önermişlerdir (26).

HGV ile infekte bir hemodiyaliz hastasında 8.4 yıl ara ile elde edilen iki HGV izolatının nükleotid sekanslarında %0.33 farklılık saptanmıştır. Buna dayanarak, virusun mutasyon hızının yılda bölge başına  $3.9 \times 10^4$  baz değişikliği olduğu hesaplanmıştır. 5’ UTR bölgesinde 552 nükleotid ve kısa defektif C geni korunmuş, bu bölgenin dışında nükleotid değişiklikleri benzer şekilde dağılmış ve hipervariabl (aşırı değişken) bölgeleri olmadığı görülmüştür (93).

### **Patogenez**

HGV’nin patogenezi ve hastalık yapabilme kapasitesi kesin değildir. İlk keşfedildiği yıllarda az sayıda saptanan fulminan hepatitli olgular dışında, pek çok

çalışma HGV'nin hafif klinik bulgular veya hiçbir klinik ve biyokimyasal belirti oluşturmadığını göstermiştir (83,100-103).

Deneysel olarak HGV ile infekte edilen iki şempanzede 10 ve 11 hafta sonra viremi saptanmış ve 120 haftalık izlem periyodunda vireminin sürmesine karşın hepatit oluşmamıştır. İzlem süresince haftalık yapılan karaciğer biyopsi örneklerinde patolojik bir bulgu görülmemiştir (104).

Birçok çalışma HGV'nin karaciğer hasarı yapmaksızın persistan viremiye yol açtığını göstermiştir. Virusun birçok hastada yıllarca HGV RNA titresini yüksek ve stabil bir seviyede sürdürdüğü gösterilmiştir. Hastada vireminin devam etmesi, viral replikasyonun sürdüğü anlamına gelmekte, ama bunun yerinin neresi olduğu hala tartışmalıdır (105).

Viral persistansın süresi ve sıklığı olgular arasında farklı olmakla birlikte, HCV kadar sık olmadığı ve HGV persistansının HBV ile HCV arasında bir süre devam ettiği düşünülmektedir (106). Her ne kadar HGV persistansının HCV persistansı gibi uzun olduğu düşünülüyorsa da, HGV'nin karaciğerde hasar oluşturma etkisi, HCV'nin etkilerinden bir hayli uzaktır. Karaciğerdeki HGV'nin hasar yapmayı belirlen bir kor proteininden yoksun oluşu ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bilindiği gibi viral nükleoproteinlerin patogenez ve klinik seyirde önemli etkileri vardır. Kor bölgesinin kısalığı humoral ve hücrel immün yanıtın azalması, hepatik inflamasyonun olmamasına veya az olmasına yol açabileceği düşünülmüşse de tam olarak doğrulanamamıştır (85).

HGV'nin zarf proteinlerinin hipervariabl bölgelerinin sınırlı olması, E<sub>1</sub> ve E<sub>2</sub> bölgelerinin nötralizan antikorlar için hedef durumunda olması (90,107), vireminin devamının immün sistemden kaçış ile olmadığı gibi düşünülmesine yol açmasına rağmen (92,107), HGV'nin güvenilir serolojik testlerin gelişmesine izin veren epitoplara ekspres etmemesi, immün sistemle muhtemel pasif bir ilişki ve dolayısıyla patojenitedeki belirtisizliği açıklayabilir (108).

HGV'nin replikasyon stratejisine ait bir veri olmamasına rağmen, pozitif zincirli RNA viruslarında olduğu gibi, replikasyona aracı olduğu düşünülen bir negatif zincirin yardımı ile virus replikasyonu hakkında bilgi edinilebileceği düşünülmüştür (31,33,110).

Erken klinik raporlar HGV'nin karaciğer hastalığı ile birlikteliğini önermesine rağmen, sonraki çalışmalar HGV'nin lenfotropizm mi yoksa hepatotropizm mi gösterdiğini araştırmışlardır. Laskus ve arkadaşları karaciğer transplantasyonu yapılan HGV enfeksiyonlu 6 hastanın 5'inde pozitif iplikçığı düşük titrede saptarken, negatif iplikçığı (negatif zincirli RNA intraselüler RNA'ya yansıtılmaktadır) hiçbirinde saptayamamışlardır (31). Başka bir grup ise, HCV'li HGV RNA pozitif 6 hastanın 4'ünün karaciğerinde, 1'inin hem karaciğer hem de serumunda, 1'inin ise yine hem karaciğer hem de periferik mononükleer hücrelerinde olmak üzere tümünün karaciğerinde negatif iplikçığı bulmuşlardır (109). Bunların karaciğer HGV RNA titreleri, serum ve periferik mononükleer hücrelerdekinin 10 kat fazlası olarak bulunmuştur. Yine başka bir çalışma grubu serumda HGV RNA saptanan 7 hastadan 6'sının karaciğer örneğinde negatif iplikçığı saptarken, bu hastaların periferik mononükleer hücrelerinde pozitif iplikçığı bulmalarına karşın negatif iplikçığı saptayamamışlardır (32).

Pessoa ve arkadaşları serum ve karaciğer HGV RNA düzeylerini karşılaştırmışlar ve HCV'nin aksine HGV'nin karaciğer/serum oranının çok düşük olduğunu bulmuşlardır (91). Bunu da iki şekilde açıklamaya çalışmışlardır. Birincisi, dolaşımda HCV ve HGV'nin klirensi farklı olabilir. Her iki virus sadece karaciğerde çoğalsa dahi, HCV'nin daha yüksek karaciğer/serum oranı göstermesi serumda HGV'den daha hızlı temizlendiğini gösterebilir. İkincisi, virusun hepatositlerdeki replikasyonunu hızla serum içine transportu izlemekte ve düşük karaciğer/serum oranına neden olabilmektedir (91).

GBV-C/HGV'nin normal bireylerdeki doku tropizmi tam olarak değerlendirilememiştir. Bu nedenle Tucker ve arkadaşları, GBV-C/HGV'nin replikasyon yerlerini, kaza sonucu ölen ve GBV-C/HGV ile enfekte olmuş 4 sağlıklı bireyden elde edilen 23 doku örneği ve serumda araştırmışlardır. Araştırmacıların negatif ve pozitif zincirli RNA için, dört bireyden alınan dalak ve kemik iliği biyopsi örneklerinin hepsinde pozitiflik saptamaları sonucu, GBV-C/HGV için primer replikasyon bölgelerinin dalak ve kemik iliği olabileceği sonucuna varmışlardır. Serum örneklerinin ise; hepsi PCR ile pozitif bulunmuş fakat, negatif zincirli RNA tespit edilememiştir. Ayrıca negatif zincirli RNA'nın kadavranın birinin karaciğerinde, birinin de böbreklerinde tespit edilmesi, bu organlarda replikasyonun

daha düşük seviyede gerçekleştiğini düşündürmektedir. Pozitif olgulardaki doku mononükleer hücrelerinin rolü tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu bulgular ışığında Tucker ve arkadaşları, HGV'nin primer replikasyon alanının dalak ve kemik iliği olabileceğini önermiş ve hücrel tropizm aydınlanana kadar, HGV/GBV-C'yi "*kemik iliği-dalak virusu (BMS)*" olarak da isimlendirmeyi uygun görmüşlerdir (33).

Yine bunu destekleyen bir çalışma da, HGV ile infekte 4 AIDS'li hastanın değişik doku otopsi örneklerinin negatif ve pozitif RNA zincirlerinin incelenmesi ile, 4 kemik iliğinin 3'ünde, 2 dalak örneğinin 2'sinde ve 4 karaciğer örneğinin 1'inde negatif iplikçik saptanmıştır. Dokudan dokuya geçişle birlikte en yüksek titre kemik iliğinde saptanmıştır (31).

Handa ve arkadaşları, HGV'nin primer replikasyon alanının hepatositler olmadığını; hepatic dokudaki virus replikasyon tespitinin, karaciğerde mevcut olan hematopoetik hücreler veya vasküler endotelial hücrelerdeki virus replikasyonunun yansması olduğunu ileri sürmüşlerdir (111).

Karaciğer hasarı olmaksızın persistan HGV enfeksiyonunun sık karşılaşıması, HGV'nin primer olarak hepatotropik olmadığını, CMV'ye benzer şekilde ara sıra karaciğeri infekte ettiğini düşündürmektedir (1).

Ikeda ve arkadaşları, HCV'nin replike olduğu belirtilen iki insan orjinli hücre kültüründe HCV ile birlikte yine Flaviviridae ailesinden HGV'nin de replike olduğunu bildirmiştir (112).

### **Klinik Bulgular**

Çok yakın bir zamanda tanımlanan HGV'nin oluşturduğu enfeksiyon ve klinik öneminin belirlenmesi için dünyada birçok merkezde çalışma yapılmasına rağmen elde edilen bulgular yoruma açıktır. Bu virus ilk etapta hepatit virusu olarak tanımlanmasına rağmen, HGV'nin karaciğer hastalıklarındaki etyolojik rolü halen tartışmalıdır (101-103).

Bu virusu ilk keşfedenlerden olan Linnen ve arkadaşları, prospektif çalışmalarında transfüzyon sonrası hepatitlerde HGV'nin akut hepatit yapabileceğini göstermişlerdir. HGV'nin tek etken olarak bulunduğu olgular tanımlamışlar ve bu enfeksiyonlar hafif seyirli, ALT düzeyleri ortalama 200 U/L, sarılık gelişmeyen, karaciğer dışı semptom veya bulguların saptanmadığı hepatit tabloları ile izlenmiştir. Transfüzyon öncesi HGV RNA olumsuz olan bu olgularda transfüzyondan sonra 2-3

hafta içinde HGV RNA pozitifleşmiştir. HGV RNA pozitifliği bir olgu dışında ALT yükselmesi ile ilişkilidir. Olgular arasında infeksiyon sürelerinde farklılık saptanmıştır. Bir olguda 12 haftada ALT normale dönmüş, 40. haftada HGV RNA kaybolmuştur. İkinci olguda HGV RNA ve ALT aralıklı olarak yükselmiş, 80-90 hafta sonunda ALT normalleşmiş, RNA kaybolmuştur. Üçüncü olguda ise 4 yıllık izlemde HGV RNA kaybolmamış, ALT yüksekliği devam etmiştir. Ancak bu hastadaki kanser ve kullanılan ilaçlar viremi ve ALT yüksekliğine neden olabileceğini bildirmişlerdir (2,113).

Alter ve arkadaşlarının bildirdikleri akut non A-E hepatitli 45 olgudan HGV RNA olumlu buldukları hafif seyirli 4 olgunun (%9) dokuz yıllık izlemlerinde, hiçbirinde kronik hepatit gelişmez iken, 3'ü HGV RNA olumlu kalmıştır. 3 olguda sarılık gelişmiş, halsizlik, bulantı ve iştah kaybı gibi nonspesifik semptomlar gözlenmiştir. Ancak bir olguda 6 ay içinde biyokimyasal iyileşme olduğu halde, HGV RNA dokuz yıl için olumlu saptanması, HGV'yi etken olarak kabul ederken dikkatli davranılması gerektiğini ortaya koymuştur (100,114).

Transfüzyon alıcılarında hepatit gelişenlerle gelişmeyenler arasındaki HGV infeksiyon oranları benzerdir. HGV ile infekte kan alıcılarının %75'inde karaciğer hastalığına ilişkin biyokimyasal bulgu yoktur. HCV ile birlikte olan HGV infeksiyonlarında karaciğer fonksiyon testlerinde, klinik bulgularda ve kronikleşmede, tek başına HCV infeksiyonuna göre bir fark yoktur. Bu olgularda ALT değişiklikleri HCV RNA ile ilişkili iken, HGV RNA ile ilişkisi bulunamamıştır. Aynı şekilde kronik B ve C hepatitli hastalarda HGV infeksiyonunun klinik bulgular, karaciğer fonksiyon testleri ve histopatolojisine etkisi olmadığı gösterilmiştir (115-117). HGV'nin HBV ve HCV ile birlikteliği sık görülmesine rağmen, bu infeksiyonların klinik seyrinde bir değişiklik gözlenmediği karaciğer histopatolojisini ve interferona yanıtı etkilemediği bildirilmiştir (117). ABD'de yapılan bir çalışmada akut HCV'li hastaların %60'ında kronik hepatit gelişirken, HCV+HGV koinfeksiyonlu hastaların %61'inde hepatit geliştiği bildirilmiştir (100).

HGV'nin kronik hepatit, siroz veya hepatoselüler karsinomaya neden olduğuna dair bir kanıt yoktur (45). Etiolojisi tanımlanamayan kronik hepatit olgularındaki HGV infeksiyonu oranı (%8-17) ile kronik hepatit C (%11-28) ve kronik hepatit B (%10-18) olgularındaki oranlar benzerlik göstermektedir.

Kriptojenik siroz nedeniyle karaciğer transplantasyonuna giden olguların çoğunluğu (%74-78) HGV ile infekte değildir. HGV enfeksiyonunun transplantasyon sonrası hepatit sıklığı veya greft (yama) ömrü üzerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır (26,101,118,119). Bazı karaciğer hastalıklarında HGV RNA bulunma oranları tablo 3'de gösterilmiştir.

HGV'nin fulminan hepatite neden olup olmadığı tartışmalıdır. HGV pozitif non A-E fulminan hepatitli olgularda etkenin HGV olduğunu kanıtlamak güçtür. Mutant HGV izolatlarının karaciğer hasarına yol açabileceği öne sürülmekle birlikte karşı görüşlerde bulunmaktadır. Ancak bu olguların daha önceki HGV durumlarını bilmek gereklidir (84).

Xuezhong ve arkadaşları, kronik hepatit B ve C enfeksiyonunun hepatoselüler karsinoma ile yakın beraberliğinin ispatlanmış olmasından yola çıkarak, yine kan yoluyla geçişi söz konusu olan HGV'nin bu hastalar üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta, hepatoselüler karsinomalı hastalarda % 27'lik bir oran tespit etmelerine karşın, bunların sadece % 9'luk kısmında yalnız HGV enfeksiyonu olması ve HGV enfeksiyonlu ve HGV enfeksiyonsuz hastalar arasında klinik gidiş açısından bir fark bulunamaması; HGV'nin hepatoselüler karsinomalı ilerlemiş nonB-nonC kronik karaciğer hastalığı için bir majör etiyolojik ajan olamayacağı ve hepatoselüler karsinomanın klinik nedenine HGV'nin etkisinin minimal olması gerektiğini önermişlerdir (45).

HGV'nin karaciğer hastalığına sebep olup olmadığı tartışılırken, bazı araştırmacılar HGV ile başka hastalıkların ilişkisini araştırmıştır. Bu grubun başında, bu virusun kan ve kan ürünleri ile geçtiği kesinleştiğinden, kan bozukluğu olan hastalıklar, hemodiyalizli hastalar, kemik iliği transplantasyonu olan hastalar ve HIV'li hastalar gelmektedir.

Human immunodeficiency virus (HIV) ile infekte kişilerde HGV koinfeksiyonu sık görülmektedir. Bir çalışmada, HIV+HGV koinfekte kişilerde HGV bulunmayanlara göre HIV hastalığının daha yavaş ilerleme gösterdiği bildirilmiş, HGV'nin varlığı olumlu bir prognostik faktör olarak gösterilmiştir (120,121).

Bir çok virusun otoimmün hastalıklarda rolü olmasa bile, otoimmüniteyi tetikleyebileceği gösterilmiştir. Özellikle otoimmün hepatitlerde hepatit C virusunun etkisi göz ardı edilemez. Bu verilere dayanarak, HGV'nin de otoimmün hepatitte rolü



Tablo 3. Karaciğer hastalıklarında HGV viremisi

Hastalık	Bölge	HGV RNA (+) %	Kaynak
Posttransfüzyon non A-E hepatiti	ABD	16.6, 23	113, 114
Kronik non A-C hepatiti	İtalya	39	124
	Tayvan	10	125
	Japonya	2.3	113
	Türkiye	12.5	2
	G. Amerika	13	20
Kriptojenik karaciğer sirozu	Endonezya	11.5	20
	İspanya	8	117
	Türkiye	18	102
Kronik hepatit C	İsveç	18	126
	Almanya	32.6	127
	İtalya	26.5	108
	İspanya	7	117
	Türkiye	28	102
	ABD	16,25,25.3	113,100,83
Kronik hepatit B	Çin	31	45
	ABD	32	100
	İspanya	8	117
	Türkiye	18	102
Kronik HBV+HCV enfeksiyonu	Çin	55	45
Akut non A-E hepatiti	İtalya	3.1	128
	ABD	9	100
Akut hepatit C	İtalya	48.3	128
	Avusturya	21	122
Akut hepatit A	İtalya	2.9	128
	ABD	25	100
Akut hepatit B	İtalya	19	128
	Avusturya	16	122
	İspanya	24	116
Karaciğer transplantasyonu	İtalya	36	3
	Pre-operatif	ABD	26
	Post-operatif	ABD	26
	İtalya	71	3
Hepatoselüler karsinoma	Çin	27	45
	Endonezya	7	20
	İspanya	4	117
Alkolik hepatit	İspanya	2	117
	ABD	10.2	113
Otoimmün hepatit	Avusturya	11	122
	Japonya	0	123
	ABD	9.4	113
Primer biliyer siroz	ABD	1.7	113
Kronik karaciğer hastalığı	Türkiye	13	102
Fulminan hepatit	Tayvan	3.6	50
	İspanya	19	116
	Almanya	50	84

olabileceği düşünölmüştür. Fakat yapılan bir araştırmada, HGV RNA'nın bu hasta popölyasyonunda, kontrol grubuna nazaran artmış bir prevalans ortaya koymasına karşın, otoimmün hastalıkta HGV'nin rolünün minimum seviyede olabileceği sonucuna varılmıştır (122). Başka bir çalışmada ise, otoimmün hepatitte HGV RNA pozitifliği tespit edilemediğinden, HGV'nin böyle bir rolünün olamayacağını düşündüklerini bildirmişlerdir (123).

Saulea ve arkadaşları, HGV ile multipl sklerozun beraberliğini araştırmışlar ve multipl sklerozun patogeneğinde HGV'nin rolünün olmadığını düşünmüşlerdir (129).

Hematolojik hastalıklarda, özellikle de kemik iliği transplantasyonu yapılanlarda, karaciğer disfonksiyonu prognozu etkileyebilecek şekilde gelişebilmektedir. Bunun için, karaciğeri etkileyebilecek diğer viral etkenlerde önemlidir. HGV'nin kemik iliği alıcılarında uzun zamanlı periyotta karaciğer disfonksiyonu ile ilişkili olabileceği ve bu hastalarda transplantasyondan önce sık kan transfüzyonu almalarının da bir sonucu olarak HGV enfeksiyonun yüksek sıklığının tespiti ile daha fazla önem arz etmesine karşın; HGV'nin ALT düzeyi üzerine etkilerinin kendi kendini sınırlayıcı ve geçici olduğunun gösterildiği çalışmalar mevcuttur (26,115)

Hepatit sonrası kemik iliği aplazisi gelişen bazı non A-E hepatitli hastalarda tek etken olarak HGV'nin saptanmasından dolayı, HGV'nin aplastik anemiye neden olabileceği ileri sürölmesine rağmen; yapılan başka bir çalışmada, aplastik anemili hasta grubunda HGV pozitifliği %26.3 bulunurken, multipl transfüzyonlulardan oluşan kontrol grubunda bu oranın %23.1 olarak bulunması ile, bu durum kan transfüzyonuna bağlı geçiş oranının yüksek olmasıyla açıklanılmaya çalışılmıştır (130-132).

### **Bulaşma Yolları**

HGV için tartişılan ve tam olarak açık olmayan bir çok özellik olmasına rağmen, kesinleşmiş ve tartişmaya gerek duyulmayan bir özelliği, bulaşın parenteral yol ile olmasıdır (133-136). Önceden HGV RNA negatif iken, kan ve kan ürünlerinin transfüzyonundan sonra pozitifleşen alıcılar ve HGV RNA pozitif vericileri

saptanmıştır (113,114). Moleküler yöntemlerle enfeksiyon kaynağını kanıtlayan çalışmalarda vardır (137).

Intravenöz ilaç kullananlarda ortak kullanılan enjektör iğneleri ile bulaş söz konusu olabilmektedir. Multipl kan ve kan ürünü transfüzyonu yapılanların %30'dan fazlası, intravenöz ilaç kullananların yaklaşık %80'inde HGV RNA veya anti E<sub>2</sub> antikör pozitifliği mevcuttur (23,106,138). Hemodiyalizli hastalarda, diğer parenteral geçişli viral hepatitler (hepatit B, C) gibi, HGV'nin de sık görüldüğü rapor edilmiş ve prevalansın diyaliz süresi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (139-142).

HGV'nin kan donörleri arasındaki prevalansının HCV'den yüksek olması ve HGV ile infekte hastaların önemli bir bölümünde açık bir parenteral girişim anemnezinin olmaması, bulaşma için başka yolların olabileceğini düşündürmüştür. Serumunda HGV RNA pozitiflik saptanan 12 kişinin 6'sının seminal sıvısında da virus saptanması ile seksüel yolun önemli olduğu, ayrıca HGV prevalansının homoseksüel erkekler ve hayat kadınları arasında yüksek olması ve hayat kadınlığı süresi ile oranın arttığı saptanması ile bu grubun, virus için toplumda önemli bir rezervuar olabileceği söylenmiştir (24,96,143).

Moleküler yöntemlerle yapılan çalışmalar sonucu, anneden bebeğe % 20-70 oranında vertikal geçişin olduğu bildirilmiştir (25,127,144,145). Kord kanında virusun saptanmaması ve doğumdan sonraki erken dönemde bebekte virusun saptanması, geçişin intrauterin olmaktan ziyade perinatal olduğunu düşündürmektedir (23,25,127,146). Bunu destekleyen bir bulguda doğum şekli sezaryan olduğunda geçiş riskinin azalmış olmasıdır (147). Perinatal dönemde anneden kazanılan HGV, HBV'ye benzer şekilde, belirgin bir karaciğer patolojisine neden olmadan büyük oranda kronikleşebilmektedir (148).

Anne sütü örneklerinde HGV RNA bulunamadığından, HGV'nin anne sütü ile geçmediği görüşü savunulmuştur (127).

Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 6 HGV RNA pozitif hastanın 2'sinin (%33) tükürüklerinde HGV RNA saptanmış ve serum HGV sekansları ile % 99.8 homolojiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak virusun tükürükte tespit edilmesinin virusun bulaşmasında rol oynadığının göstergesi olamayacağını destekleyen çalışmalar bulunmaktadır (126).

### **Epidemiyoloji**

Hepatite neden olan viruslar ana geçiş yollarına göre 2 temel gruba ayrılmaktadır. Bunlar; 1) Enterik geçişli (HAV, HEV) viral hepatitler, 2) Parenteral geçişli (HBV, HCV, HDV) viral hepatitler. Yeni tanımlanan HGV'nin de parenteral geçişli olduğunun saptanması ile, HGV ile ilgili epidemiyolojik çalışmalarının çoğunu kan donörleri, hemodiyaliz, talesemi ve hemofili hastaları gibi kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu alanlar oluşturmuştur.

Kan vericilerinde yapılan taramalarda, A.B.D.'de %1.4-2.5; Almanya'da %1-4.7; İspanya ve Fransa'da ise %3-4.2 oranlarında HGV viremi bildirilmektedir (2,22,84,107,113,133,149,150). İstanbul ve Samsun'dan kan vericilerinde bildirilen oran %2'dir (2,3). İzmir'de kan vericilerinde %1 oranı saptanmıştır (3). Kan donörlerinde yüksek HGV RNA pozitiflik oranları bildiren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Brezilya'da % 5.2, Myanmar'da % 11 ve Bolivya'da % 14.6 gibi oranlar bildirilmiştir (151,99,29). Tablo 4'de farklı gruplardaki HGV RNA oranlarını bildiren çalışmaların sonuçları özetlenmiştir. ALT değerleri normal olanlar ile yüksek olan kan donörleri arasında viremi oranları benzerlik göstermektedir. Kan donörleri genellikle risk yönünden sorgulanarak seçtikleri için genel popülasyonda bu oran daha yükselebilir; Yunanistan'da sağlıklı popülasyonda %10 oranı bildirilmiştir (152). Ancak farklı ülkelerde yapılan sağlıklı kontrol gruplarında % 0.6-3.7 arasında oranlar bildirilmiştir (122,128,153). ABD'de çocuk ve genç erişkin dönemde HGV viremi oranının % 6.3 olduğu bildirilmiştir (27). Hamile olan bayanlarda da Japonya'da %0.6, İngiltere'de %6.5 ve Tanzanya'da % 13.5 gibi değişik HGV viremi oranları bildirilmiştir (144,25,28). Çok sayıda kan transfüzyonu alanlarda HGV RNA oranı %30-35'lere yükselmektedir (127,153,154). Uzunlumoğlu ve arkadaşları çok sayıda kan transfüzyonu uygulanan 48 talesemi hastasının yedisinde HGV RNA pozitifliği bildirmiştir (155). Kocabaş ve arkadaşlarının çok sayıda kan transfüzyonu uygulanan çocuklardaki oranı da %3.1'dir (3). Türkiye'de değişik gruplardaki HGV viremi oranları tablo 5'de gösterilmiştir. Diğer parenteral yollarla bulaşma riski olan gruplarda da enfeksiyon oranı artmaktadır. Damar içi uyuşturucu bağımlılarında A.B.D.'de %15.4-33 oranları verilirken (106,113), Avrupa'da %24-44.6 arasında yüksek oranlar bildirilmiştir (22,82,107,125,154).

Tablo 4: Kan donörleri ve bulaşma riski yüksek çeşitli gruplardaki HGV prevalansı

	Bölge	HGV RNA (+) %	Kaynak
Kan donörleri	Almanya	2,2.5,3, 4.7	22,107,82,84
	Fransa	4.1	150
	Hindistan (gönüllü)	4	17
	Hindistan (ticari)	46.7	17
	Çin (gönüllü)	1	17
	Çin (ticari)	4-7.9	17
	Myanmar	11	99
	Japonya	1.2	21
	Bolivya	14.6	29
	ABD	1.7,2.5	113,133
	Batı Afrika	15.2	4
	Norveç	2.5	14
	Avustralya	1-4	15,16
	Polonya	3.2	163
	İtalya	4.4,15	158,167
	Brezilya	5.2	151
	Kan alıcıları	Japonya	1.7
Fransa		30	154
Multipl kan alıcıları	İspanya	18	26
	Honduras	20	125
	Avusturya	2	122
Sağlıklı kontrol	İtalya	3.7	128
	Japonya	0.6	153
	Yunanistan	10	152
	İsveç	3	125
	ABD	6.3, 6.7	27,111
Çocuk, genç erişkin	İngiltere	6.5	25
	Japonya	0.75	144
	Tanzanya	13.5	28
	Kongo	10.3	92
	ABD	38,33,28.8	107,22,82
İntravenöz ilaç kullananlar	ABD	15.4,33	113,106
	İsveç	24	125
	Fransa	44.6	154
Hemofili	Japonya	24	153
	Fransa	10	150
	Hollanda	18	168
	Honduras	12	125
	İtalya	14.5	103
Talesemi Hemodiyaliz	Almanya	8.6,6.5	159,161
	Japonya	4.4, 4.5	157,156
	Yunanistan	37.6	152
	Fransa	14,57.5	142,140
	ABD	9	133
	İspanya	26	160
	İspanya	25,42	118,26
Kemik iliği alıcıları	Fransa	37.7	154
	İtalya	20.6	23
HIV	İtalya	20.6	23
	Vietnam	31	99

Tablo 6 : Çeşitli gruplarda HGV E2 antikorlarının prevalansı

Hasta grubu	Bölge	Anti-E2 (%)	Kaynak
Kan donörleri/ sağlıklı kontrol	Fransa	14.9	150
	İtalya	5, 8.8, 15.6	167, 158,128
	Almanya	9	107
	Polonya	24.2	163
	Norveç	10.5	14
	Avusturya	13	122
Çocuk ve genç grup	ABD	9.4	27
	İngiltere	5.3	25
Gebeler	Taiwan	18.5	13
	Mısır	55.9	169
	İtalya	34.5	128
Kronik HCV	Fransa	15	142
	Almanya	20.8, 10.5	161,159
	Japonya	7.8, 10.7	156,157
	İtalya	18.5	103
Hemodiyaliz hastaları	Fransa	15	142
	Almanya	20.8, 10.5	161,159
Talasemi	Japonya	7.8, 10.7	156,157
	İtalya	18.5	103
Kemik iliği transplantlılar	Japonya	1.9	115
	Almanya	41	107
İntavenöz ilaç kullananlar	Fransa	25	150
	İtalya	32	167
Hemofili	İtalya	15	167
	İtalya	15	167
Hemofili (nonvirus inaktif)	Hollanda	96	168
	İtalya	34.4	23
Hemofili (virus inaktif)	İtalya	15	158
	İtalya	15	158
Hemofili (50 yaş üstü)	İtalya	15	158
	İtalya	15	158
HIV	İtalya	15	158
Son dönem böbrek hastalığı	İtalya	15	158

HGV RNA sadece viral persistans markını olduğundan ve virusla karşılaşmayı göstermediğinden dolayı; prevalans çalışmaları için, viral temizlenmenin de bir göstergesi olduğu kabul edilen HGV zarf proteinine (anti E2) karşı oluşan antikorların saptandığı bir ELISA testi kullanılmaktadır.

HGV anti E2 antikorlarının HGV RNA ile birlikte bakıldığı çalışmalarda, HGV prevalansının normal popülasyonda bile % 10-20'lere çıktığı gösterilmiştir. Farklı gruplardaki anti-E2 prevalansı tablo 6'da gösterilmiştir. Sağlıklı grup ve kan donörlerinde gösterilen HGV anti E2 prevalansı %5 ile 24 arasında değişmektedir (14,122,107,128,150,163,167). ABD'deki çocuk ve genç grupta ise % 9.4 olarak bildirilmiştir (27). HGV E2 antikor prevalansı kronik HCV hastaları, hemodiyaliz hastaları, intravenöz ilaç kullananlar, hemofili ve talesemi gibi parenteral

transmisyon riski yüksek gruplarda daha da yükselmektedir (103,156-159,161,167). Hatta 50 yaş üstü hemofili hastalarında HGV antikor prevalansının % 90'lara çıktığı bildirilmiştir (168).

### Tanı

Aktif GBV-C/HGV infeksiyonunun tanısı viral genomik RNA'nın saptanması ile konmaktadır. Bunun için en yaygın kullanılan yöntem revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonudur (RT-PCR). RT-PCR'da ya iki evreli amplifikasyon ("nested" veya "semi-nested") ya da bir PCR sonrası özgül problemlerle hibridizasyon kullanılır. Çalışmalarda çoğunlukla laboratuvarların kendi geliştirdikleri PCR veya kısmen standardize edilmiş ticari kitler (HGV PCR ELISA digoksigenin saptama sistemi) kullanılmaktadır (82). Genomun en çok korunan kısmı olan 5'NCR araştırılmaktadır. NS5a bölgesinden veya helikaz (NS3) bölgesinden de primerler seçilmektedir. 5' NCR ile NS5a'ya ait primerlerin birlikte kullanıldığı çoklu PCR yapılarak duyarlılık artırılmaktadır (82). RT-PCR'ın saptama duyarlılığı  $8 \times 10^2$  genom ekivalan/ml olarak bildirilmiştir. GBV-C/HGV düzeylerini kantitatif olarak saptamak için, araştırmalarda dallı DNA testi de kullanılmaktadır (91). Bu sistemde de 5'NCR araştırılmaktadır, saptama duyarlılığı 30000-50000 genom ekivalan /ml'dir. Ayrıca ligaz zincir reaksiyonu ile de HGV testi geliştirilmiştir.

HGV'nin heterojen olması ve PCR ile ilişkili kontaminasyon, ampikon taşınması ve teknik sorunlar nedeniyle testin standardizasyonu sorun olabilmektedir. Fransa'da yapılan çok merkezli kalite kontrol çalışmalarında hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, deneyimli laboratuvarların bile yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar verebileceği gösterilmiştir (170). Bu çalışmalardaki değişken sonuçlar kalite kontrol çalışmalarının gerekliliğini vurgulamaktadır. Çalışmalardan kliniğe veya patogeneze ilişkin sonuçlar çıkarılırken yöntemin önemi ortaya çıkmaktadır. HGV'nin NS5a ve 5'NCR'ye ait altı farklı primer setinin karşılaştırıldığı bir çalışmanın sonucunda da rutin testlerde 5' kodlanmayan bölgeden bir set ile NS5a bölgesinden bir setin paralel kullanılmasının testin güvenilirliğini arttırdığı gösterilmektedir (171). Bir devirli PCR yapılacaksa özgül problemlerle hibridizasyon gerekmektedir. Ayrıca, HGV RNA incelenirken kullanılan ekstraksiyon yöntemi de PCR metodunun duyarlılığı bakımından önemlidir. Bir çalışmada, RNA ekstraksiyonunda fenol-kloroform metodu ile QIAamp (Qiagen

Chatsworth, CA) isimli ticari firma kiti karşılaştırılmış ve QIAamp kit metodunun uygulama kolaylığı ve zaman tasarrufu gibi avantajlarının olmasına rağmen, fenol-kloroform metodundan 10 kat daha az duyarlı olduğu saptanmıştır (172).

HGV RNA pozitifliği infeksiyonunun devamlılığını göstermektedir. Ancak geçirilmiş infeksiyonu ait bir bilgi vermemektedir. Bunun için, GBV-C/HGV'nin zarf E2 proteini olduğu düşünülen bir protein klonlanarak, ökaryotik hücre sisteminde eksprese edildi ve bu hücrelerden sekrete edilen E2 proteini pürifiye edilip, solid faz ELISA testinde kullanılmıştır (173). Ayrıca, HGV genomunun E1, E2, NS3 ve C terminal ucundan elde edilen 4 antijenli rekombinant Immunblot tekniği kullanılarak, anti E2 proteinine karşı antikor oluşumunun %93.7 oranında kaldığı gösterilmiştir (161).

Tespit edilebilen HGV viremisinin kaybı ile E2 proteinine humoral immün cevabın birlikteliği; E2 spesifik antikorlarının, HGV infeksiyonunun iyileşme simgesi gibi kullanılabileceğini düşündürmektedir (173-175). E2 proteini, muhtemelen virusun dış yüzeyinde bulunmasıyla, humoral immün yanıt için hedef olmaktadır (107,174). E2'ye karşı sıvısal bağışık yanıtın oluşmasıyla genellikle bir yıl içinde HGV viremisi kaybolmaktadır veya bir çok vakada olduğu gibi HGV RNA kaybolduktan kısa bir süre sonra anti-E2 antikorları pozitifleşmektedir. Antikor oluşmayanlarda virusun temizlenmediği düşünülmektedir (103,169,173). Perez-Gracia ve arkadaşlarının hemodiyalizli hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışma sonucunda, anti E2 antikorları pozitif hastaların bir bölümünde anti E2 antikorları negatifleşmekte ve hatta bazılarında HGV viremisi ve replikasyonunun tekrar ortaya çıkabilmesi üzerine; HGV anti E2 antikorlarının geçici ve sınırlı bir koruyuculuk yaptığını bildirmişlerdir (141).

#### **Enzim İmmün Assay Sistemi (ELISA)**

Antijen antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini izleme temeline dayanan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ya da EIA (Enzyme Immun Assay) deneyleri; ya bilinen bir antijene karşı antikor ya da bilinen bir antikora karşı antijen aranması amacıyla kullanılmaktadır. Pek çok viral, bakteriyel ve paraziter hastalıkların tanısını da ELISA testleri kullanılmaktadır.

Antikor aramak : bilinen bir antijen plastik bir yüzeye kaplatılır. Daha sonra antikor aranacak serum eklenir. Belli bir inkübasyon süresinden yıkama işlemi



yapılır. Serumda antijene uygun antikor varlığında, antikor antijene bağlanacak ve yıkama ile ayrılmayacaktır. Bir enzim (peroksidaz, alkale fosfatase veya beta galaktozidaz) ile işaretlenmiş insan globülini anti serumu (veya enzim bağlanmış stafilkokal A proteini) eklenip, bir süre beklenir ve yıkama işlemi tekrarlanır. İncelenmekte olan serumda antijene uygun antikor antijene yapışmış olacağından enzim ile işaretlenmiş insan antiglobulinini tutacak ve yıkama ile bırakmayacaktır. Enzime uygun bir kromojen substrat eklenir. Sisteme yapışmış enzim bu substratı parçaladığında ortaya çıkan renk, yapılacak kolorimetrik ölçümlerle ölçülerek bağlanmış olan enzim, dolayısıyla antikor hakkında bilgi edinilebilir. Bu yöntem (antijen üzerine antikor ve onları üzerine enzimli anti human antikor) bir indirekt ELISA tekniğidir (176).

Antijen aramak için, işlemde prensip aynı ancak antikor arama işleminin tersidir. Yani antikor katı faza bağlanıp üzerine antijen ilavesi ve bunların üzerine enzimli antikor ilavesi ile antijen “sandwich” şeklinde kaplanır. Son olarak antikora karşı işaretli anti globulin ilavesi ve renk reaksiyonu ile antijen varlığı ölçülür. Bu yöntem de bir sandwich veya direk ELISA tekniğidir (176-178).

### **PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Kary Mullis'in 1985 yılında, temel dinamiklerini hayal edip tasarladığı ve hasta örneğinde az sayıda bulunan “etkene özgü nükleik asitlerin (DNA/RNA) in-vitro çoğaltılarak saptanması” esasına dayanan PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi, son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanan bir moleküler biyoloji uygulamasıdır (176,179.180).

### **PCR Uygulamasındaki Temel Aşamalar**

PCR uygulanacak olan hasta örneği (serum, balgam, bronkoalveolar lavaj, idrar, mide suyu, biyopsi materyali, kemik iliği aspiratı, BOS, parafin blok) uygun koşullarda alındıktan sonra sırasıyla aşağıdaki aşamalardan geçirilir.

**1-Ekstraksiyon aşaması:** PCR uygulamasına geçilmeden önce, incelenen hasta örneğinde var olduğu düşünülen DNA/ RNA'nın ekstrakte edilerek yoğunlaştırılması gereklidir. Ekstraksiyon için, fenol ve kloroform gibi çeşitli organik çözücüler ve etanol kullanılır(181). Ancak son yıllarda NaI ve N-loril sarkozinat gibi maddelerin kullanıldığı teknikler, ya da RNAzol veya IsoQuick gibi ticari reaktiflerin kullanıldığı yöntemler de geliştirilmiştir (172,182).

**2- Master-Mix Aşaması:** DNA/RNA ekstraksiyonundan sonraki amaç, elimizdeki nükleik asidi çoğaltmak ve saptanabilir düzeye getirmektir. DNA' nın sentezlenebilmesi ve çoğaltılabilmesi için, bir arada bulunması zorunlu olan bazı yapı taşları vardır. Bu elemanlar:

\*Sentez için kalıp görevi görecektir olan DNA molekülü( ekstraksiyon ürünü),

\*DNA molekülünün komplementer zinciri sentezlemek için gerekli "primer" adını verdiğimiz ve aranan DNA' nın küçük bir bölümüne spesifik olan oligonükleotid dizisi,

\*Sentezi gerçekleştirecek olan ' Taq DNA polimeraz' enzimi

\*Yeni zincire eklenecek olan çeşitli nükleotidler (dNTP: DATP, dGTP, dTTP, dCTP).

**3- Amplifikasyon (çoğaltma )aşaması:** Bu aşamada neler olup bittiğini anlamamız için DNA' nın nasıl replike olduğunu hatırlamamız yeterlidir. DNA replikasyonu sırasında, önce iki zincir birbirinden ayrılır, sonra zincirlerin her birisi kalıp olarak kullanılarak, DNA polimeraz enzimi yardımıyla ortamdaki nükleotidler birbirlerine eklenerek eski zincirlerin birer kopyası yapılır. PCR' da sentez ve çoğalma , ısı ve zaman ayarlı "Thermal cycler" adı verilen otomatik cihazlar kullanılarak birbirini izleyen 3 aşamanın tekrarlayan siklusları ile gerçekleştirilir (183-185).

**I-Denatürasyon:** DNA molekülünün iki zinciri birbirlerine hidrojen bağları ile tutunmuşlardır. Isı 92-94 °C 'ye programlanarak bu bağlar koparılır ve iki zincir birbirinden ayrılır.

**II-Bağlanma( annealing):** Isının aniden düşürülmesi ile (37-65°C), ortama eklenmiş olan "primerler" sadece aranan DNA' nın özgün bölgelerine bağlanırlar.

**III. Uzama (Extension) :** Isının tekrar 72 C'ye yükseltilmesi ile, Taq DNA polimeraz adı verilen ve ısıya dayanıklı bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan elde edilmiş DNA polimerazın yardımı ile ortama eklenmiş olan nükleotidler kullanılarak yeni zincir sentezi gerçekleşir.

Bu 3 aşamadan meydana gelen tek bir siklus 40 kez tekrarlandığında, başlangıçta tek bir adet olan DNA molekülü reaksiyon sonunda  $2^{40}$  kez arttırılmış olur.

**4. Saptama ve Analiz :** Yukarıda kısaca açıklanan biçimde çoğaltılan DNA molekülü daha sonra, DNA agaroz jel elektroforezi yapılarak ayrılır ve Ethidyum bromür ile boyanarak, UV transilluminatörde incelenerek değerlendirilir. Son yıllarda PCR ürünlerinin miktar tayinlerinde de kullanılan ELISA uygulamaları ile (biotin-streptavidin sistemi) ürünlerin incelenmesi işlemi yapılmaktadır (176,186). Ayrıca, PCR uygulaması sırasında florösan maddeler kullanılarak hedef ürünlerin kantitatif olarak miktarlarının belirlenmesi sağlanabilmektedir. PCR florösan boya ile uygulanırsa, çift zincirli DNA varlığında florösan daha güçlü boyanır ve DNA çoğaltılması uygun optik ve görüntüleme sistemleri kullanılarak eş zamanlı monitorize edilebilir. PCR işleminin tamamlanmasından sonra elde edilen görüntüler analiz edilerek çoğalma oranı gösterilebilir. Standartlar gibi kantite edilmiş DNA örnekleri ile aynı anda bilinmeyen orijinal örnekler çalışılırsa, bilinmeyen örneklerin kalıp miktarı saptanabilmektedir.

#### **Tedavi ve Korunma**

HGV enfeksiyonu hafif seyreden ve kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyondur(161). Kronik hepatite veya karaciğer hastalığına yol açtığına dair kesin bir kanıt yoktur (187-189). Kronik C hepatitinde uygulana interferon tedavisinin HGV replikasyonunu baskıladığı, ancak tedavinin kesilmesi ile tekrar aktive olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca bu olgularda klinik iyileşme ve biyokimyasal bulgulardaki düzelmeler HGV viremisinden ziyade, HCV viremisi ile ilişkilidir(21,102,146). Bu nedenle yalnız HGV enfeksiyonuna tedavi düşünülmemektedir. İnterferon- $\alpha$  tedavisi alan HGV viremili kronik hepatit C enfeksiyonlu hastaların %20.7'de anti E2 serokonversiyonu oluşmuş iken bu oran interferon tedavisi almayanlarda %4.8'dir. Böylelikle bazı hastalarda interferon tedavisinin HGV'ye karşı etkili olduğunu bildirilmiştir (13).

## MATERYAL VE METOT

**Hastalar :** Çalışma için kan donörleri, HBV ve HCV'li hastalar olmak üzere 3 gruptan örnek toplandı. Birinci grubu Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezine Nisan 2001-Temmuz 2001 tarihleri arasında gönüllü olarak ilk kez kan vermek isteyen donörler arasından; kan ve kan ürünü transfüzyon anamnezi, intravenöz ilaç kullanımı veya mesleki riski olmayan 60 kişi oluşturdu. İkinci gruba, anti-HCV pozitif seroloji ile tanısı konulan 50 hepatit C virus enfeksiyonlu hasta, üçüncü gruba HBsAg ile anti HBc total (Ig M+Ig G) pozitif olan 50 hepatit B virus enfeksiyonlu hasta dahil edildi.

Gruplardan alınan kan örnekleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında, serumları ayrılarak iki ayrı ependorf tüplerine kondu ve PCR ve ELISA çalışıncaya kadar -70 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

Kan donörlerinde ülkemizde yasal olarak zorunlu tarama testleri olan; VDRL (Veneral Disease Research Laboratory) haricindeki, HBsAg, anti-HCV Ab, Anti HIV1-2 Axsym (Abbott Laboratories-USA) cihazında Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) yöntemiyle çalışıldı. Yine HBV ve HCV'li hastalarda HBsAg, HBc total ve anti-HCV antikörleri Axsym (Abbott Laboratories-USA) cihazında Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) yöntemiyle çalışıldı.

### **MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) reaksiyon prensipleri:**

Microparticle Enzyme Immunoassay teknolojisinde, mikrondan küçük boyutlardaki lateks partiküllerin asılı olduğu solüsyon kullanılarak parametrelerin ölçümü yapılır. Partiküller ölçülen parametre için spesifik olan yakalayıcı bir molekülle kaplanmıştır. Mikropartiküllerin efektif yüzey alanı analiz kinetiklerini arttırırken analiz inkübasyon zamanını azaltır. Bu da MEIA analizlerinin diğer immün analiz yöntemlerinden daha kısa zamanda tamamlanmasını sağlar.

Numune merkezinde (Sampling Center) her bir parametre için reaktif ve numune alınarak reaksiyon kabına (Reaction Vessel) transfer edilir. Reaksiyon kabı buradan alınarak, reaksiyon ve numunenin reaksiyon ısısına ulaşıncaya kadar inkübe edildiği işlem merkezine (Processing Center) transfer edilir. Reaktif ve numuneden oluşan reaksiyon karışımı cam elyaf matriksli (glass fiber matrix) sabit kaba

aktarılır. Mikropartiküllerin geri dönüşümsüz bağlanması sonucu, immün kompleks cam elyaf tarafından tutulurken, reaksiyon karışımı matriks'deki geniş porlardan hızla akar.

Matrikse önce Alkaline Phosphatase-labeled konjugat sonra da 4-Methylumbelliferly Phosphate (MUP) eklenir. Konjugat, MUP'un Methylumbelliferone'ye (MU) hidrolizini katalizler. Matrikste oluşan floresan MU'nun ölçüm değeri test edilen parametrenin konsantrasyonu ile orantılıdır.

Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) analizleri için gerekli olan reaktifler:

- Yakalayıcı molekülle (antijen, antikor veya viral partikül) kaplanmış mikropartiküller
- Bulk Solüsyon 1-Fluorescent substrate, 4- Methylumbelliferly Phosphate (MUP)
- Alkaline Phosphatase-labeled konjugat

#### **Anti-HGV ELISA :**

HGV Ab EIA (Alpha Scientific, USA) insan serum veya plazmasında HGV virusuna spesifik antikorların tespitinin yapıldığı bir enzyme linked immunoassaydır. Mikroplak kuyucukları Rekombinant protein ve HGV sentetik peptidlerinin multipl epitoplari ile kaplanmıştır. Serum veya plazmada HGV antikorları varlığında, peptid ve rekombinant proteinler ile reaksiyona girer ve solid faza yapışırlar. Non-spesifik antikorlar yıkama tamponu ile uzaklaştırılır. Antijenik proteinlere bağlı HGV spesifik human IgG, goat-anti- human IgG peroxidaz konjugatı ile reaksiyona girer ve kromojenik substratlı son reaksiyon ile gözlemlenebilir. Reaksiyonun yoğunluğu fotometrik olarak okutulur.

#### **Test Prosedürü**

- Çalışmadan önce bütün reagentler oda ısısına getirildi.
- Mikroplaktan negatif kontrol, pozitif kontrol ve blank (kör kuyucuk) için 2 kuyucuk ayrıldı. Tüm serum örnekleri (negatif ve pozitif kontrol hariç) için, numune diluentinden 100µl dağıtıldı.
- İlk 2 kuyucuk blank için ayrıldıktan sonra negatif ve pozitif kontrol serumlarının 100µl'si mikroplağın sonraki ikişer kuyucuğuna ve her bir serum örneğinin 5 µl'si diğer kuyucuklara sırasıyla eklendi.
- Yavaşça çalkalanıp, 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.

- Konsantre yıkama tamponu distile su ile 20 kat dilüe edildi. İnkübasyondan alınan plağın bütün kuyucukları boşaltıldı ve dilüe yıkama tamponu ile 20 saniye için yıkandı ve kurutuldu. Bu yıkama işlemi 5 kez tekrarlandı.
- Her bir kuyucuk için 100 µl enzim konjugat eklendi.
- 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.
- Yıkama işlemi tekrarlandı.
- Her bir kuyucuğa substrat solusyonu A ve B'nin birer damlası dağıtılıp, karıştırıldı.
- 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
- Renk reaksiyonunun sonlanması için her bir kuyucuğa stop solüsyonunun (2N sülfürik asit) 50 µl'si dağıtıldı.
- ELISA okuyucusunda (ELISA Reader ELX 800, Biotek) 450 nm dalga boyunda okutuldu.

#### **Değerlendirme**

Cut off değeri = 0.15 + negatif kontrolün ortalama OD

Eğer örneğin OD değeri cut off değerinden küçükse, anti-HGV antikoru negatiftir.

Eğer örneğin OD değeri cut off değerinden büyük veya eşitse, anti-HGV antikoru pozitifdir.

#### **HGV RNA PCR**

**RNA ekstraksiyonu :** NucleoSpin RNA Virus kiti (Macherey-Nagel, Düren-Germany) kullanılarak uygulandı. Uygulaması;

- İzolasyona başlanmadan önce bütün serumlar oda sıcaklığına getirildi ve 15 saniye vortekslendi.
- Çalışılacak standart ve serum sayısı kadar 1.5 µl'lik ependorf tüpleri numaralandırılarak bir spora yerleştirildi. ( her bir ekstraksiyon işleminde 20 serum örneği çalışıldı)
- Dört adet standart ( $10^3$ - $10^4$ - $10^5$ - $10^6$  ) ile serum örneklerinin 150 µl'si ependorflara dağıtılıp, üzerlerine RAV<sub>1</sub> lizis solüsyonundan (guanidinium tuzu içerir) 600 µl dağıtıldı.
- Vortekslenip, 5 dakika 70 °C'lik benmaride inkübe edildi.

- Sonra 600 µl ethanol standart ve örneklerin üzerlerine eklenip vortekslendi.
- Daha sonra bu lizis karışımından 700 µl alınıp, kolonlu tüplere (Nucleospin RNA virus columns) aktarılıp 1 dakika 8000 devirde santrifüj edildi.
- Kolonlu tüplerin altındaki ependorf tüp değiştirilip, tekrar lizis karışımından 700 µl alınıp alt tüpü değiştirilen kolonlu tüplere aktarıldı.
- Tekrar 8000 devirde 1 dakika santrifüj edildi ve alttaki tüpler tekrar yenilendi.
- Kolonlu tüplerin üzerine RAW buffer (yıkama tamponu) koyulup, 1 dakika santrifüj edilip, alt tüpler değiştirildi.
- Sonra 600 µl RAV3 (100 ml ethanol ilave edilmiş yıkama tamponu) eklenip santrifüj ve tüp değiştirme işlemi yapıldı.
- Tekrar 200 µl RAV3 eklenip 5 dakika santrifüj edildi. Alt tüpler atılıp ependorf tüpler kolonu tüpün altına yerleştirildi.
- Son olarak 50 µl 70 °C'lik saf su (free H<sub>2</sub>O) kolonlu tüplere konularak 1 dakika santrifüj edildi ve kolonlu kısım atıldı. Ekstrakte edilen saf RNA su içinde çözünerek ve ependorf tüpe aktarılmış oldu.

#### **Reaksiyon Miksinin (Master Mix) Hazırlanması :**

Reaksiyon miksinde HGV genomun iyi korunan bölgesi olan 5' UTR'den elde edilen primerler ve prob kullanıldı. Açılımları şu şekildedir:

Primer 1: 5'- GTT GGT AGG T CGT AAATCCC GGT CATCTTG-3'

Primer 2: 3'- GGCT GCAGTCCGAA CAGCAATTTG-5'

Prob: 5'- CTCTAGCGCT TGTGGCGAGA AA-3'

Master Mix (reaksiyon miksi) aşağıdaki protokole göre hazırlandı.

<u>Reaktifler</u>	<u>1 (bir) örnek için gerekli hacim (μl)</u>
H <sub>2</sub> O	18.8
10x Taqman buffer	5.2
25 mM MgCl <sub>2</sub>	11.0
10 mM dATP	1.5
10 mM dGTP	1.5
10 mM dCTP	1.5
10 mM dUTP	1.5
AmpliTaq DNA polimeraz	0.25
AmpliTaq Gold DNA polimeraz	0.25
Multiscribe Revers Transkriptaz	0.25
RNase inhibitör	0.25
Prob (5 pM/μl)	0.75
Primer 1 (10 pM/μl)	1.0
Primer 2 (10 pM/μl)	1.0
Toplam	45.0
<u>Ekstrakte RNA</u>	<u>5.0</u>
Toplam	50.0

Test sayısı (standart ve serum örneklerinin toplam sayıları) ile her bir örnek için belirtilen reaktif hacimlerinin çarpımı hesaplanarak bir ependorf tüpüne aktarıldı. Bu ependorf tüpü vorteksle karıştırılıp santrifüjlendi. Bu reaksiyon (master mix) miksinden 45 μl numaralandırılmış reaksiyon tüplerine (0.5 μl'lik ependorf tüpü) aktarıldı. Ve bu reaksiyon tüplerinin üzerine 5 μl ekstrakte RNA numarasına uygun şekilde eklendi. Tüplerde hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edildi. Reaksiyon tüplerinin kapağı kapatılıp GeneAmp 5700 Sequence Detection System (Perkin Elmer Biosystems, Foster City) real-time PCR aletine yüklendi.

#### **Amplifikasyon :**

Ekstrakte edilen RNA'nın cDNA (komplomenter DNA) haline çevrilmesi ve hedef cDNA'nın da çoğaltılması için gerekli olan revers transkriptaz, primer, prob ve



tamponlar master miks içinde sağlandıktan sonra Thermalcycler aşağıda belirtilen şekilde programlandı.

Stage 1: 45 °C 30 dakika (cDNA sentezlenmesi)

Stage 2: 95 °C 2 dakika

Stage 3: 95 °C 15 saniye ⇒ denatürasyon

52 °C 25 saniye ⇒ bağlanma (annealing)

72 °C 30 saniye ⇒ uzama (extension)

Stage 3 DNA amplifikasyon basamağı olup 45 siklstan oluşturuldu.

Stage 4: 4 °C Hold (bekleme)

#### **Analiz :**

GeneAmp 5700 sequence Detection System PCR işlemi DNA'nın real time çoğalmasını monitor yoluyla sağlamaktadır. Herbir siklusun bağlanma basamağında görüntü, örnek plağın girişinden yansıyan yeşil ışığın birikimidir. Bu ışık birikimi, siklsta kantitatif DNA amplikonuna orantılı olmaktadır. Her bir kuyucuktan dağılan floresans izlenip, GeneAmp 5700 SDS software ile gösterilmektedir.

Değerlendirme; kullanılan standartların amplifikasyon eğrilerinin ölçümü ile termal cyclere bağlı bilgisayardaki SDS software programı aracılığı ile gerçekleştirildi.

Inoue ve arkadaşları, HGV RNA için real-time PCR sisteminin sensitivitesinin  $10^1$  kopya/ml gibi yüksek olduğunu bildirmişlerdir (190).

#### **İstatistiksel Değerlendirme**

Veriler SPSS 6.0 for Windows istatistik paket programında değerlendirilmiş ve istatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Kan donörü grubu, yaşları 20 ile 50 arasında değişen ve yaş ortalaması 34.70 (SD  $\pm$  7.86) olan, 59 erkek ve 1 kadından oluştu. HBV'li hasta grubu, yaşları 18 ile 65 arasında değişen ve yaş ortalaması 35.18 (SD  $\pm$  13.16) olan, 40 erkek ve 10 kadından oluştu. HCV'li hasta grubu ise, yaşları 19 ile 72 arasında değişen ve yaş ortalaması 45.22 (SD  $\pm$  14.22) olan, 22 erkek ve 28 kadın olmak üzere 50 kişiden oluştu.

Kan donörlerinden sadece 1 kişide (% 1.66) HGV RNA pozitifliği saptandı. HGV viremi saptanan bu kişide, HGV antikorları ELISA ile tespit edilemedi. Kan donörlerinden 4 kişide (%6.66) anti HGV pozitifliği saptandı ve HGV antikorları saptanan bu kişilerde HGV viremi tespit edilemedi. Sonuç olarak kan donörlerinde, HGV ile karşılaşma (HGV RNA pozitifliği + anti HGV ELISA pozitifliği) oranı %8.33 olarak saptandı.

Çalışmamızda HGV enfeksiyonu için diğer bir riskli grup olan HBV enfeksiyonlu 50 hastanın 2'sinde (% 4) HGV RNA pozitifliği saptandı ve yine diğer bir çalışma grubu olan HCV enfeksiyonlu 50 hastanın 2'sinde (% 4) HGV RNA pozitifliği saptandı. HGV viremi saptanan bu hastalarda anti-HGV ELISA yöntemiyle tespit edilmedi. HBV enfeksiyonlu 3 kişide (%6) anti HGV pozitifliği saptandı ve HGV antikorları saptanan bu kişilerde HGV viremi tespit edilmedi. HCV enfeksiyonlu hastaların 2'sinde (%4) anti HGV pozitifliği saptandı ve bu kişilerde de HGV RNA pozitifliği tespit edilmedi. HGV ile karşılaşma oranı, HBV enfeksiyonlu grupta %10 ve HCV enfeksiyonlu grupta %8 oranında tespit edildi. Çalışma gruplarında saptanan HGV RNA ve anti-HGV ELISA sonuçları tablo 8'de verildi.

Tablo 8: Çalışma gruplarındaki HGV RNA ve anti-HGV pozitiflik oranları

Grup	HGV RNA (+)		Anti-HGV (+)		n	Toplam %
	n	%	n	%		
Kan donörleri	1	1.66	4	6.66	5	8.33
HBV enfeksiyonlu	2	4	3	6	5	10
HCV enfeksiyonlu	2	4	2	4	4	8

Gruplar arasında HGV RNA pozitiflik oranları sırasıyla kan donörlerinde %1.66, HBV infeksiyonlularda ve HCV infeksiyonlularda %4 olarak tespit edilmiştir. İnfeksiyonlu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ( $p>0.05$ ). Aynı şekilde anti-HGV pozitiflik oranları sırasıyla kan donörlerinde %6.66, HBV infeksiyonlularda %6 ve HCV infeksiyonlularda %4 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ( $p>0.05$ ).

HGV RNA ve anti-HGV pozitiflik oranları kan donörleri, HBV ve HCV infeksiyonlu hastaların yaş alt gruplarına göre incelendiğinde, yaş alt grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ). Yaş alt gruplarında HGV RNA ve anti-HGV pozitif ve negatif sayıları tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9: Yaş alt gruplarında HGV infeksiyon oranları

Yaş alt grupları	HGV RNA		Anti-HGV		Karşılaşma oranı (%)
	HGV (-)	HGV (+) (%)	Anti-HGV (-)	Anti-HGV (+) (%)	
18-29	41	2 (%4.65)	42	1 (%2.32)	3/43 (%6.97)
30-39	52	2 (%3.7)	50	4 (%7.4)	6/54 (%11.1)
40-49	32	- (%0)	30	2 (%6.25)	2/32 (%6.25)
50-59	19	- (%0)	19	- (%0)	0/19 (%0)
60-72	11	1 (%8.33)	10	2 (%16.66)	3/12 (%25)

## TARTIŞMA

Yirminci yüzyılın sonlarında, transfüzyon sonrası veya toplumdan kazanılan akut hepatitlerin % 10-20'sinin ve kronik hepatitlerinde % 2-10'unun etiolojisinin hala bilinmemesi ve bunların non A-E hepatit olarak tanımlanması, adeta yeni tanımlanmayı bekleyen hepatit viruslarının araştırılması için bir neden oluşturmuştur (2). Yine aynı yıllarda moleküler tekniklerdeki gelişmeler sayesinde, farklı araştırma grupları tarafından non A-E hepatit olgularına aday yeni viruslar (HGV, TTV, TTVL, SEN-V gibi) tanımlanmıştır (3). Bu yeni aday viruslardan hepatit G virusunun, HCV gibi *Flaviviridae* familyasında bulunması, genomik yapısının en kısa sürede ortaya konulmasına ve üzerinde çok sayıda çalışma yapılmasına yol açmıştır (85,86,89). Hepatit G virusunun parenteral geçişinin gösterilmiş olmasından dolayı, akut ve kronik non A-E hepatit vakalarının yanı sıra diğer parenteral geçişli hepatitler için risk grubunu oluşturan, hemodiyaliz hastaları, hemofili hastaları, intravenöz ilaç bağımlıları gibi gruplar bu virus için ilgi çekici olmuştur (128,166,191). Bundan başka HBV ve HCV gibi parenteral yolla bulaşan hepatit viruslarının kan donörlerinde rutin olarak araştırılıyor olması ve HGV'nin de kan transfüzyonu ile bulaşan hepatit virusları içinde gösterilmesi; acaba bundan sonra transfüzyondan önce kan donörlerinde HGV virusunun araştırılıp araştırılmayacağı sorusunun cevabı, kan donörlerini bu virusun araştırılması için önemli bir çalışma grubu pozisyonuna itmiştir.

HGV RNA kaybolmasından sonra pozitifleşen ve viral klirensin bir göstergesi olduğu kabul edilen HGV zarf proteinlerine karşı oluşmuş antikorlar göz ardı edilirse, HGV'nin akut veya geçirilmekte olan infeksiyonunu gösterecek ne bir antijen ne de virusa karşı oluşmuş antikorun tespit edilememesi, HGV için yapılan epidemiyolojik çalışmaların hepsini PCR ile HGV RNA'nın saptanmasına bağımlı kılmıştır (168). PCR bazlı metotların da antikor veya antijen tespit eden metotlara göre daha zahmetli, pahalı ve uygulamasının zor olması gibi dezavantajlarından dolayı, geniş çaplı epidemiyolojik çalışmaların yapılmasında problem oluşturmuştur. PCR ile HGV RNA, virusla karşılaşmayı göstermesi yerine, viral persistans belirleyicisi olduğundan epidemiyolojik çalışmalarda sıkıntı oluşturmaktadır (86,107). Ayrıca PCR ile viral RNA tespiti için tam bir standardizasyonun oluşturulamaması, yapılan epidemiyolojik ve hatta HGV genotipleme çalışmalarında

bile, HGV genomunun farklı bölgelerinin kullanılmış olması ve çalışmalarda kullanılan metoda veya laboratuvar koşullarına bağımlı olarak yalancı pozitiflik veya yalancı negatiflik gibi sorunlardan dolayı, hatalı verilerin elde edilmiş olabileceğinin unutulmaması gerekmektedir (170-172). HGV için sensitif ve spesifik antijen veya antikor ile ilgili yöntemlerin geliştirilmesine kadar, güvenilir epidemiyolojik çalışmalar için HGV RNA yanında ELISA ile HGV anti E2 antikorlarının bakılmasının uygun olduğu düşünülmüştür. HGV RNA ile anti E2 antikorlarının birlikte bakıldığı epidemiyolojik çalışmalarda hem geçirilmekte olan hem de geçirilmiş infeksiyonlar ortaya konulmuş olacaktır.

Bizim çalışmamızda, Isparta bölgesi kan donörlerinde HGV için vireminin bulgusu olan HGV RNA pozitifliği %1.66 saptandı. Kan donörlerinde yapılan taramalarda, A.B.D.'de %1.4-2, Almanya'da %1-2.5 ve Japonya'da %1.2-1.3 oranları ile bulgularımız benzerdir (100,113,133,22,107,21,188,192). Yine ülkemizde de Ülgen ve arkadaşlarının (İstanbul), Pekbay ve arkadaşlarının (Samsun) kan vericilerinde %2, İzmir'de ki kan vericilerinde ise % 1'lik oranların gösterilmesi; Türkiye'deki kan donörlerinde HGV RNA pozitiflik oranının % 1-2 arasında değiştiğine dair verilerle paralellik sağlamıştır (3,80). Türkiye'de sağlıklı kişilerde bildirilen HGV RNA oranları %0.5 ile %3.3 arasında değişmektedir (2,3,80). Kan donörlerinde farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda çok düşük olduğu gibi çok yüksek HGV viremi oranları da bildirilmiştir. Bunlar; Kore'de %0, Avustralya'da % 1-4, Norveç'te %2.5, İspanya ve Fransa'da %3-4.2, İtalya'da % 4.4, Brezilya'da % 5.2, Myanmar %11 ve Bolivya'da % 14.6 gibi çeşitlilik göstermektedir (189,15,16,14,3,163,156,151,99,35). Bu farklı ülkelerdeki çeşitli HGV viremi oranları, çalışma kapsamına alınan grupların farklı sosyo-ekonomik ve kültürel toplumlardan köken almaları ile açıklanabileceği gibi, virusun farklı bölgelerde farklı dağılımlar gösterdiğinin bulgusu da olabilir. Değişik kültürel düzeydeki kişilerde olan farklı seropozitiflik oranlarının göstergesi olarak, gönüllü kan vericilerinde HGV RNA oranları Hindistan'da %4, Çin'de %0.7 iken, profesyonel vericilerde ise Hindistan'da %46.7 ve Çin'de %7.9 olarak bildirilmiştir (17).

Bizim çalışmamızda kan donörlerinde geçirilmiş HGV infeksiyonunun bulgusu olan anti-HGV pozitifliği ELISA ile %6.66 olarak saptandı. Kan donörlerinde yapılan farklı çalışmalarda anti-HGV oranları, Japonya'da %2.5,

İtalya'da %5-8.8, Almanya'da %9, Norveç'te 10.5, Fransa'da %14.9 ve Polonya'da %24.2 olarak bildirilmiştir (192,167,158,107,14,150,163). Yine sağlıklı kişilerde de Avusturya'da %13 ve İtalya'da %15.6 gibi farklı oranlarda anti-HGV pozitifliği bildirilmiştir (122,128). A.B.D.'de sağlıklı çocuk ve genç yaş gruplarında yapılan bir çalışmada HGV anti-E2 pozitiflik oranlarını %9.4 olarak bildirmişlerdir (27). Kan donörü ve sağlıklı gruplarda yapılan çalışmalarda HGV anti-E2 oranları %2.5 ile 24.2 arasında değişirken, hemodiyaliz, talasemi, hemofili gibi parenteral girişimlere maruz kalan hasta gruplarında bu oranların %10.5 ile 32 arasında değiştiği bildirilmiştir (142,161,169,156,157,103,150,167). Hatta Hollanda'da yapılan bir çalışmada, 50 yaş üstü hemofili hastalarında HGV anti-E2 pozitiflik oranını %96 olarak bildirmeleri kan transfüzyonu ve parenteral girişimlerin, HGV'nin bulaş mekanizmasında ne kadar etkili olduğunu göstermektedir (168).

Kan donörlerindeki HGV infeksiyonu ile karşılaşma oranının dünya üzerinde yüksek oranlarda bildirilmiş olmasından dolayı, HGV'nin sadece parenteral yolla geçişinin olmadığı ve diğer bulaşma yollarının da önemli olduğu düşünülmektedir. Seksüel yoldan ve anneden bebeğe intrauterin geçiş gösterebileceği bildirilmiştir (28,30,147,193). Brezilya'da yapılan bir çalışmada, iki HGV infeksiyonlu hastanın aile içi transmisyonunda moleküler delillerin gösterilmesi, HGV prevalansının kan donör adayları, HCV hastaları ve non A-E hepatitli hastaları da içeren farklı Brezilyalı popülasyonlar arasında yüksek bulunmasını açıklayabilmiştir (151). Bizim çalışmamızda HGV infeksiyonlu hastaların aile bireyleri ekonomik ve sosyal zorluklardan dolayı araştırılmamıştır. Ancak kan donörlerinin seçilmiş ve ilk kez kan veriyor olması, bölgemizdeki düşük oranları açıklayabilir. Wolff ve arkadaşları, Flavivirusların hayat sikluslarında ve transferlerinde rol oynayan vektörlerden olan *Aedes aegypti*'nin (sivrisinek) HGV virüsü için de vektör rolü olup olmadığını araştırmışlar ve *Aedes aegypti*'nin salgılarında HGV'ye ait delillere rastlamadıklarını bildirmişlerdir (194).

Bizim çalışmamızda, HBV infeksiyonlu hastalarda % 4 HGV RNA pozitiflik oranı saptandı. HBV infeksiyonlu hastalarda daha önceden bildirilen İspanya'da %8-24, Avusturya'da %16, İtalya'da %19, Çin'de %31 ve A.B.D.'de %32 gibi oranlar, bizim tespit ettiğimiz orandan (%4) yüksek olduğu görülmektedir (117,116,122,128,45,100). Yine Türkiye'de de HBV infeksiyonlu hastalarda yapılan

bir çalışmada %18 oranı bildirilmiştir (102). İtalya'da HBV enfeksiyonlulara anti-HGV oranını %28.6 olarak bulmuşlardır ve HGV ile karşılaşma oranını HBV enfeksiyonlulara %47.6 olarak bildirmişlerdir (128). Bizim çalışmamızda HBV enfeksiyonlu hastalarda, hemodiyaliz hastası, hemofili hastası, intravenöz ilaç kullanımı ve hayat kadınlığı gibi parenteral riskli grupların olmaması ile düşük oranda HGV seropozitifliği açıklanabilir. Diğer çalışmalarda risk gruplarının değişkenliği seropozitiflik oranlarındaki farklılığı açıklayabilir. Örneğin İtalya'daki çalışmada HGV'ye maruz kalan hastaların %46.7'si intravenöz ilaç kullananlar ve %23.3'nün ise yüksek riskli seksüel ilişkide bulunan kişiler olduğu bildirilmektedir (128). Yine Feucht ve arkadaşlarının çalışmalarında da, sağlıklı bireylerdeki HGV RNA pozitiflik oranı %1.9 iken, hemofili hastalarında %35.2, intravenöz ilaç kullananlarda %28.8, kan transfüzyon alıcılarında %21.1 gibi yüksek oranlar bildirilmiştir (166). Türkiye'de hemodiyalizli hastalarda da yapılan çalışmalarda, HGV RNA pozitiflik oranlarının %7.1 ile 31.3 arasında değiştiğinin bildirilmesi ile Türkiye'de ki sağlıklı bireylerde yapılan çalışma değerlerinden yüksek bulunması HGV'nin bulaş mekanizmasında parenteral yolun önemini ortaya koymaktadır (2,3,80).

Bizim çalışmamızda, HCV enfeksiyonlu hastalarda % 4 HGV RNA pozitiflik oranı saptandı. HCV enfeksiyonlu hastalarda daha önceden bildirilen A.B.D.'de %16-25, İsveç'te %18, Avusturya'da %21, Almanya'da %24.4-32.6 ve İtalya'da %26.5-48.3 gibi oranlar, bizim tespit ettiğimiz orandan (%4) yüksek olduğu görülmektedir (113,100,83,126,122,107,127,108,128). Yine Türkiye'de de HCV enfeksiyonlu hastalarda, Kaymakoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada %28 oranı bildirilmiştir (102). Çin'de HBV ve HCV viruslarının her ikisi ile birden infekte kişilerdeki HGV viremi oranları %55 olarak bildirilmiştir (45). Yalnız bizim sonuçlarımıza yakın olan ve Japonya'da HCV enfeksiyonlu hastalarda yapılan bir çalışmada HGV RNA pozitiflik oranı %4.8 olarak bildirilmiştir (192).

Bizim çalışmamızda, HCV enfeksiyonlu hastalarda ELISA ile anti-HGV oranını %4 olarak saptandı. Geçirilmiş HGV enfeksiyonunu gösteren anti-HGV oranları Tayvan'da %18.5, İtalya'da 34.5 ve Mısır'da %55.9 olarak bildirilmiştir (13,128,169). Sonuç olarak bizim çalışmamızda HCV enfeksiyonlu hastalarda HGV ile karşılaşma oranı %8 olarak saptandı ki bu oran diğer çalışmalarda bildirilen

oranlardan düşük bulunmuştur. Yine bizim oranlarımıza yakın HGV viremisi bildirilen Japonya'da ki çalışmada da anti-E2 pozitifliği %28.3 ve HGV ile karşılaşma oranı %33.1 olarak bildirilmiştir (192). Bizim çalışmamızda HCV enfeksiyonlu hastalarda da HBV'de olduğu gibi (hemodiyaliz hastası, hemofili hastası, intravenöz ilaç kullanımı ve hayat kadınlığı) parenteral riskli grupların olmaması ile düşük oranda HGV seropozitifliği açıklanabilir. Zaten bizim bölgemizdeki kan donörlerindeki HBV ve HCV pozitiflik oranları da Türkiye için bildirilen HCV oranlarının alt sınırlarında olması parenteral yoldan geçiş yapan virusların düşük prevalansta olmasını açıklayabilmesi açısından önemlidir (193).

Etiyolojisi bilinmeyen akut veya kronik non A-E hepatitlerinde HGV RNA pozitiflik oranı, sağlıklı popülasyona göre yüksek oranlarda olmakla birlikte, etiyolojisi bilinen viral hepatit hastalarında da benzer şekilde yüksek oranlar görülmektedir. Bu da HBV ve HCV ile benzer bulaşma yollarını paylaştığını göstermektedir (194-197). Kriptojenik siroz nedeniyle karaciğer transplantasyonuna giden hastalarda %22-26 arasındaki oran operasyon sonrasında %67'ye yükselmektedir (3). Operasyon öncesinde de bu hastalar çok sayıda kan ürünü ile temas ettiklerinden risk altındadırlar; operasyonda riski önemli derecede artırmaktadır. Renal transplantasyon olgularında %13-36 oranında, kemik iliği transplantasyon olgularında da %25-61 oranında HGV enfeksiyonu bildirilmektedir (3,32,113,198). Türkiye'de Ülgen ve arkadaşları 20 kemik iliği transplantasyon olgusunun üçünde transplantasyon öncesinde ve sonrasında HGV RNA'yı pozitif olarak bulmuşlardır (3). Bu olgulardaki çok sayıdaki kan transfüzyonu, parenteral girişim ve immün süpresyon HGV enfeksiyonunun görülme nedenlerini açıklayabilmektedir. Mısır'da yapılan bir çalışmada, önceki Schistosomal enfeksiyon delili ve HGV RNA pozitifliği arasında önemli bir korelasyon bulunmuştur. Bu korelasyonun Schistosomal enfeksiyon tedavisinde injeksiyon uygulanması ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (169).

Feucht ve arkadaşları, parenteral geçiş için risk faktörü olmayan sağlıklı kişilerden 446 serumu, tanımlanmış 4 HGV antijenli immunoblot testi ile çalışmışlar ve seroprevalans oranını çocuk ve adolesanlar için % 5.6 bulmalarına karşın, artmış seksüel aktivitenin olduğu düşünülen yaş grupları için %15.3 ile 26.8 arasında bulmuşlardır (124). Kan ürünleri risk faktörünün olmadığı durumlarda bile, seksüel



transmisyon gibi diğer etkili geçiş yollarının varlığı, HGV infeksiyonunun genel popülasyonda da % 16-25 gibi yüksek oranlarda görülmesini sağlamaktadır. Yine aynı çalışma grubu, HGV infeksiyon seroprevalansının, seksüel geçişli virus infeksiyonu olan Herpes simpleks tip 2'ye benzediğini ancak, damlacık yolu ile bulaştığı bilinen virusların profiline benzemediğini bildirmişlerdir (124). Bizim alışmamızda da, 18-29 ve 30-39 yaş gruplarında toplam 4 HGV RNA pozitifliği olmasına rağmen, 40-49, 50-59 ve 60-72 yaş gruplarında toplam 1 hastada HGV RNA pozitifliği saptandı. HGV ile karşılaşma oranları incelendiğinde yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık olmamasına rağmen en yüksek oran 60-72 yaş grubunda (%25) bulunmuştur. Yani anti-HGV veya HGV ile karşılaşma oranlarının yaşla birlikte artmakta olduğunu bildiren çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

İtalya'da yapılan bir çalışmada, HGV RNA/anti-E2 pozitifliğine bakarak HGV insidansını yılda %1.7 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışma grubu, bir ünite kanda infeksiyon riskini %0.053 olarak hesaplamışlardır ve bu infeksiyon riski oranının Tayvan'da bildirilen oranlardan 10 kat daha düşük olduğunu vurgulamışlardır (103).

HCV için viral replikasyonun majör alanı karaciğer olmasına rağmen aynı ailya içinde bulunan HGV'nin esas replikasyon alanının karaciğer olup olmadığı tartışmalıdır. Bu yeni tanımlanan hepatit G virusunun hepatitle ilişkisine dayanarak ve yapılan çalışmalarda replikasyon yerinin karaciğer olabileceğinin bildirilmesine rağmen (34), sonraki bir çok çalışmada HGV'nin karaciğerdeki replikasyonunun düşük oranda veya serum içindeki virusun karaciğer dokusuna invazyonu sonucu oluşabileceği bildirilmiştir (91).

Karaciğer hastalığının patogeneğinde HGV infeksiyonunun rolü hala tartışmalıdır. Saitoh ve arkadaşları, HGV RNA pozitif hastalarda, düşük protein seviyeleri, düşük serum albümin seviyeleri ve düşük trombosit sayıları bulmuş olmalarına rağmen HGV RNA negatif hastalardan istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır. Ancak bu parametreler açısından HGV anti E2 pozitif olanlarla negatif olanlar arasında hiçbir farklılık olmaması üzerine; HGV'nin tek başına olmasa bile, HGV'nin HCV ile koinfeksiyonun, HCV infeksiyon patogeneğinde etkili olabileceğini ve interferona cevabı etkileyebileceğini bildirmişlerdir (192). Inoue ve arkadaşları, HGV'nin fulminan hepatik yetmezlik ile etiyolojik birlikteliği

olabileceğini bildirmişlerdir (190). Sergi ve arkadaşları fulminan hepatiti olan hastaların karaciğer dokusunda HGV RNA bulunduğunu bildirmişler ve HGV'nin fulminan hepatitte tek ajan olarak tanımlanması bile kofaktör olarak etiolojide rol oynayabileceğini bildirmişlerdir (199).

HGV enfeksiyonunun akut sporadik non A-E hepatitli hastalarda tek ajan olarak tanımlanması ve ayrıca idiyopatik fulminan hepatit ile kriptojenik karaciğer hastalıklı olgularda bildirilmesine rağmen, HGV enfeksiyonunun sıklıkla karaciğer hastalığının klinik ve biyokimyasal delilleri olmaksızın bulunduğu açıkça gösterilmiştir (117). Hemodiyalizli hastalarda yapılan bir çalışmada, eğer hasta başka bir hepatotropik virus (HBV, HCV) ile koinfekte değilse, HGV ile enfekte kişilerin karaciğer hastalığının klinik ve biyokimyasal bulgularından yoksun olduğu gösterilmiştir. Chu ve arkadaşları, HGV ile koinfekte HCV'li hastalarda, sadece HCV'li hastalardan karaciğerin histopatolojik, immünolojik, virolojik ve klinik bulguları bakımından bir fark bulamamalarına karşın, safra kanalı hasarının şiddeti bakımından anlamlı bir fark saptamaları; HGV koinfeksiyonunun HCV'nin safra kanalı hasarını arttırabileceği konusunda daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiğini savunmuşlardır (200).

Persistan HGV enfeksiyonu insanlarda dikkate değer sıklıkta olmasına rağmen henüz virusun kronik hepatite neden olduğu tam olarak gösterilememiştir. Epidemiyolojik veya deneysel şempanze çalışmalarının sonuçları, transfüzyon sonrası hepatit ile orijinal bir birliktelik ve HGV ile spesifik bir hastalığın çok yakın ilişkisini önermemiştir (1-3). Halbuki, HGV dünya üzerinde majör patojen olan insan Flavivirusu HCV ile çok yakın ilişkilidir. Üstelik HGV ve HCV'nin her ikisi de, viral giriş için düşük dansiteli lipoprotein reseptörünü kullanıyor gözükmektedir. PBMC kültürlerinde tam uzunluktaki HGV RNA transkriptinin enfeksiyöz olduğu gösterilmiştir (121). Enfeksiyöz HGV cDNA klonunun yapısı ve in vitro replikasyonu, insan Flavivirus çalışmaları için önemli bir materyal olabilir. Böylelikle belki de HCV için bilinmeyen konularda bilgi elde edilebilecektir.

HDV enfeksiyonunun HBV ile enfekte fulminan hepatitli hastalarda bir kofaktör gibi davrandığından dolayı ve HGV enfeksiyonunun HCV ile enfekte hastalarda sık görülmesi üzerine; HGV'nin de HCV enfeksiyonunda bir koinfeksiyon oluşturup hastalığın şiddetini arttırabileceği düşünülmüştür. Ancak yapılan

çalışmalarda, kronik hepatitli hastalar ile koinfeksiyonlu (HCV+HGV) hastalar karşılaştırıldığında serum ALT d¼zeyleri ve karaciğer histopatolojik bulgularında farklılıklar saptanmamıştır (115,116). Buna ilave olarak, Tanaka ve arkadaşlarının çalışmalarında  $\alpha$ -interferon tedavisine yanıt veren 5 koinfeksiyonlu hastanın yapılan incelemelerinde, tedavi bitimini takiben gözlenen hepatik inflamasyonun HCV replikasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (165).

Human İmmünodeficiency Virus (HIV) ile infekte kişilerde %35-40 oranında HGV viremişi gösterilmiştir (154,201). HGV viremişinin, HIV ile infekte kişilerde mortalite ve hastalığın klinik gidişatında gecikmeye yol açabileceği iki klinik raporda belirtilmiştir(120,121). Xiang ve arkadaşları, HGV'nin in vitro CD4+ T hücrelerinde replike olduğunu göstermeleri üzerine; HGV ile birlikte HIV infeksiyonunun viral interferansa neden olabileceğini ve böylelikle hastalığın prognozunda gerilemeye yol açabileceğini düşünmüşlerdir (121). Buna ek olarak, CD4 T hücre sayılarının HGV viremik hastalarda, HGV RNA negatif hastalardan önemli derecede yüksek olduğunun gösterilmesi, HGV infeksiyonunun HIV infeksiyonunda favori prognostik faktör olabileceğinin düşünülmesine yol açmıştır (136). Ancak HGV ile HIV infeksiyonları arasındaki etkileşimin, HIV hastalığı korunması veya tedavisinde yeni bir yaklaşıma yol açıp açmayacağı sorusunun cevabı için, uzun süreli ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç göstermektedir.

Karaciğer disfonksiyonu sıklıkla hematolojik hastalarda gelişmektedir. Karaciğer hastalığının özellikle kemik iliği transplantasyonu yapılanlarda prognoza majör etki ettiğinden, karaciğere etkisi tartışılan HGV infeksiyonunun, hem kemik iliği transplantasyonlu hastaların klinik seyirlerine etkisi açısından hem de virus patogenezinin etkinliği açısından önem arz etmiştir. Osaki ve arkadaşları, HGV ile infekte kemik iliği transplantasyonu olanların maksimum ALT değerlerini HGV ile infekte olmayan hastalardan yüksek bulmuşlardır ve HGV infeksiyonunun muhtemelen kemik iliği alıcılarının hayatta kalma sürelerinde karaciğer disfonksiyonu ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (115).

Yeni yapılan çalışmalar kronik HGV infeksiyonunun zamanla sakinleşerek, HGV RNA'nın temizlenmesine yol açtığını ortaya koymuştur. Ancak, HIV ile infekte intravenöz ilaç kullanıcılarında ve hematolojik bozukluğu olan hastalarda gör¼ldüęü gibi, kanserli ve yaşlı hastalarda yani immün sistemi deprese kişilerde,

kronik hepatit vakalarından daha uzun süren kalıcı viral infeksiyonların mümkün olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu hipotezi destekleyen bir bulgu da, bizim çalışmamızda da bulduğumuz gibi, HGV RNA kan donörlerinde daha genç yaşta tespit edilmesidir (117). Böyle immün direnci azalan kişilerde HGV'nin patojenitesinde değişme olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir (115).

Virus inaktivasyonu yapılmadan hazırlanan kanama faktörü alıcılarında HGV infeksiyonu oranı %9-24 iken, İspanya'daki bir çalışmada virus inaktivasyonu ile infeksiyon oranının %3 olarak belirlenmesi; HGV dahil viruslar için, kanama faktörleri hazırlanırken virus inaktivasyon işleminin gerekliliğini ortaya koymaktadır (136). Ancak virus inaktivasyon basamağına rağmen, HGV içeren kanama faktörleri ile tedavi sırasında HGV infeksiyonunun kazanılabilmesi; HGV infeksiyonu alıcılarda her ne kadar çok az zarara yol açsa bile, transfüzyonla geçen çok değişken virus infeksiyonların varlığı göz önünde tutularak, yeni ve güncel virus inaktivasyonunu sağlayacak metotlar kullanılması ve geliştirilmesinin gerekliliği ortaya konulmuştur.

HGV'nin karaciğerden çok diğer organlara ilgi duyan ve karaciğerde "masum izleyici" rolü oynayan bir virus olduğu söylenebilirse de etiyojisi tam açıklanmamış hastalıklarla ilişkili olamayacağı ifade edilemez.

Bugün için HGV'nin karaciğerdeki olaylar için; gelip geçen turist gibi masum izleyici mi veya konak immün sistem değişiklikleri olanlarda sorumlu ajan mı yoksa başka bir hepatotropik virus ile koinfeksiyonu olanlarda kofaktör mü olup olmadığı hala tartışmalıdır. Bu ve benzeri çalışmalar, hem HGV'nin dünya üzerindeki yaygınlığı hakkında bilgi sağlayabileceği gibi, hem de enfeksiyon mekanizması ve sorumluluğu hakkında veriler sağlayabilir. Sonuç olarak, HGV bizim bölgemizdeki HBV ve HCV infeksiyonlu hastalarda düşük düzeyde saptanmış olmasına rağmen kan donörlerindeki prevalansının bizim bölgemizdeki parenteral geçiş gösteren HCV infeksiyonundan daha yüksek bulunması; HGV'nin sadece parenteral geçiş yolunu kullanmadığını, aynı zamanda seksüel ve aile içi transmisyon gibi diğer bulaş yollarını da kullandığına dair veriler için bir delil daha sağlanmış olmaktadır. Bununla birlikte, HGV'nin patolojisi ve bulaş yollarının daha detaylı açıklanabilmesi için daha kapsamlı ve çok merkezli çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

## ÖZET

GB virus C/hepatit G virus (GBV-C/HGV) sıklıkla kronik hepatit B ve hepatit C infeksiyonlu hastalarda birlikte bulunan, yeni keşfedilmiş bir flavivirusdur. Biz HBV ve HCV infeksiyonlu hastalarda HGV RNA ve geçirilmiş infeksiyon belirteci olan E2 zarf proteinine karşı oluşmuş antikorların prevalansını araştırdık ve kan donörlerindeki prevalans ile karşılaştırdık. Çalışma grubu 60 kan donörü, 50 HBV infeksiyonlu ve 50 HCV infeksiyonlu hastalardan oluşturuldu. Serum örnekleri real time polimeraz zincir reaksiyonu ile HGV RNA ve ticari enzyeme-linked immunosorbent assay (ELISA) ile HGV E2 antikorlarının varlığı için test edildi. HGV RNA için real time PCR sisteminin sensitivitesi  $10^1$  kopya/ml. Kan donörlerinin serumlarında GBV-C/HGV RNA %1.66 ve HGV E2 antikorları %6.66 olarak tespit edildi. HBV (%4) ve HCV (%4) infeksiyonlu hastalardaki HGV RNA prevalansı kan donörlerindeki prevalanstan yüksek olmasına rağmen, bu durum istatistiksel olarak anlamlı değildi. HBV (%6) ve HCV (%4) infeksiyonlu hastalardaki HGV E2 prevalansı kan donörlerindeki prevalanstan farklı bulunmadı. Kan transfüzyon hikayesi olmamasına rağmen, bizim bölgemizin kan donörlerinde geçirilmiş ve geçirilmekte olan infeksiyon (viremi ve/veya HGV antikor) belirteçleri yüksek oranlar da (%8.33) tespit edilmiştir. Bundan dolayı, bizim sonuçlarımız HGV infeksiyonunun sadece kan transmisyonu ile değil ayrıca, aile içi ilişki, seksüel geçiş gibi diğer transmisyon yollarının da kullanıldığını göstermektedir. Bütün HGV viremili hastaların hiçbirinde ELISA ile anti-HGV seropozitifliği tespit edilemedi. HGV viremisinin kaybolması genellikle anti-E2 antikorlarının ortaya çıkması ile paraleldir ve bu antikorlar reinfeksiyona karşı koruyucu olarak görülmektedir.

Sonuç olarak, bizim çalıştığımız HBV ve HCV infeksiyonlu hasta gruplarında HGV infeksiyonunun prevalansı düşük oranlarda tespit edildi. Seksüel ilişki ve aile içi bulaş yolunun HGV infeksiyon bulaş mekanizmasında etkili olduğu desteklenmiştir. İnfekte kan alıcılarında, ortaya çıkan karaciğer ve karaciğer dışı olaylarda HGV'nin potansiyel rolünü açıklamak ayrıca, infeksiyon seyrinin belirlenmesinde ve konak ve viral faktörler arasındaki karşılıklı etkileşmeyi daha iyi tespit etmek için daha kapsamlı ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler : GBV-C/HGV, viral hepatit, kan donörleri, prevalans.

## SUMMARY

### **Investigation of Prevalence of GBV-C/HGV in Blood Donors and Coinfection HBV and HCV in Isparta.**

GB virus C/hepatitis G virus (GBV-C/HGV) is a recently discovered flavivirus, which has been found frequently in patients with chronic hepatitis B and C. We investigated the prevalence HGV RNA and of antibodies to the envelope 2 antigen (anti-E2), a marker of past infection, in patients with HCV and HBV infection, and compared it with the prevalence in blood donors. The study group consisted of 50 patients with HBV infection, 50 patients with HCV infection, and 60 blood donors. Serum samples were tested for the presence of HGV RNA by real time polymerase chain reaction (PCR) and for anti-E2 by a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The sensitivity of the real time PCR system for HGV RNA was  $10^1$  copies/ml. GBV-C/HGV RNA was present in the serum from 1.66% of the blood donors, and anti-HGV E2 antibodies could be detected in 6.66% of the samples. Prevalence of HGV RNA in patients with HBV (4%) and HCV (4%) infection were found higher than the blood donors despite it was not significant statistically. The prevalence of anti-E2 antibodies in patients with HBV (6%) and HCV (4%) infection were not different from blood donors (6.66%). Evidence of previous or current infection (viremia and/or antibody to E2) was detected in 8.33% of blood donors, indicating that GBV-C/HGV infection appears to be common among blood donors of our region, even in the absence of blood transfusion. Thus, our results indicate that HGV is transmissible not only by blood transfusion but also by other transmission route such as sexual and intrafamilial transmission. None of all patients with HGV viremia was determined anti-HGV seropositivity by ELISA. The clearance of viremia generally parallels the appearance of anti-E2 antibodies, which seem to have a protective role against reinfection.

In conclusion, prevalence of GBV-C/HGV infection was lower rate in our patients with HBV and HCV infection. These findings indicating that sexual and intrafamilial transmission play to role transmission of HGV infection. Further studies are needed to better define the possible interplay between viral and host factors in determining the outcome of infection, and to explore the potential role of GBV-C/HGV in inducing extrahepatic manifestations in infected blood recipients.

**Key words:** GBV-C/HGV, viral hepatitis, blood donors, prevalence.

## KAYNAKLAR

1. Alter HJ. Hepatitis G virus and TT virus . in: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Principles and practice of infectious diseases. Fifth edition , Philadelphia: Churcill Livingstone, 1760-65, 2000.
2. Erensoy S. HGV enfeksiyonu. Kılıçturgay K, (ed). Viral Hepatit 98, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 203-211, 1998.
3. Erensoy S. Hepatit etiolojisinde sorgulanan yeni viruslar. Kılıçturgay K, Badur S, (ed). Viral Hepatit 2001, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 259-273, 2001.
4. Kew MC, Kassianides C. HGV: Hepatitis G virus or harmless G virus? Lancet; 348 (suppl II): 10, 1996.
5. Zuckerman AJ. Alphabet of hepatitis viruses. Lancet ; Vol 347: 558-59, 1996.
6. McCarthy M. Hepatitis agent cloned and designated hepatitis G virus. Lancet; Vol 347: 313, 1996.
7. Wilber JC. Hepatitis C and G viruses. In : Murray PR, Baron EJO, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manuel of Clinical Microbiology. 7<sup>th</sup> ed. Washington, ASM press. 1043-52, 1999.
8. Bhattacharya I. Sorting out the viral hepatitis alphabet. Lancet; 348:1436, 1996.
9. Bhattacharya I, Sack EM. Clinical significance of hepatitis G virus starts to emerge. Lancet; Vol 347: 1755, 1996.
10. Bozdayı AM, Bozkaya H, Arslan M ve ark. Hepatiti G virus (HGV) RNA'sının RT-PCR ile belirlenmesi. Gastroenteroloji ; 7 (1 ek) :9, 1996.
11. Ağalar C, Tütüncü EE. Hepatit G virusu. Sürekli Tıp Eğitim Dergisi; 7 : 16, 1998.
12. Günaydın M. Hepatit G ve GB virusları. Ustaçelebi Ş, (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. Baskı. Ankara :Güneş Kitabevi ,895-900,1999.
13. Yu ML, Chuang WL, Dai CY , et al. GB virus C/hepatitis G virus infection in chronic hepatitis C patients with and without interferon-  $\alpha$  therapy. Antiviral Research ; 52: 241-249, 2001.
14. Nordbo SA, Krokstad S, Winge P, et al. Prevalance of GB virus C ( also called Hepatitis G virus) Markers in Norwegian blood donors. Journal of Clinical Microbiology; Vol. 38, No.7: 2584-90, 2000.
15. Wong PY, Coghlan P, Angus PW. Should we be screening blood donors for hepatitis G virus? MJA;169:375-377, 1998.
16. Moaven LD, Hyland CA, Young IF, et al. Prevalance of Hepatitis G virus in Queensland blood donors. MJA; 165: 369-71, 1996.
17. Kar P, Bedi P, Berry N , et al. Hepatitis G virus (HGV) infection in voluntary and commercial blood donors in India. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease; 38: 7-10, 2000.
18. Lefrere JJ, Luiseau P, maury J , et al. Natural history of GBV-C/Hepatitis G virus infection through the follow-up of GBV-C/Hepatitis G virus-infected blood donors and recipients studied by RNA polymerase chain reaction and anti-E2 serology. Blood ; Vol.90, No.9 : 3776-3780, 1997.
19. Munoz SJ, Alter HJ, Nakatsuji Y, et al. The significance of hepatitis G Virus in serum of patients with sporadic fulminant and subfulminant hepatitis of unknown etiology. Blood; Vol. 94 ,No. 4: 1460-64, 1999.
20. Handajani R, Soetjipto, Lusida MI, et al. Prevalance of GB virus C/ Hepatitis G virus infection among various populations in Surayaba, Indonesia, and identification of novel groups of sequence variants. Journal of Clinical Microbiology; Vol. 38, No.2 : 662-68, 2000.
21. Tanaka E, Tacke M, Kobayashi M , et al. Past and present hepatitis G virus infections in areas where hepatitis C is highly endemic and those where it is not endemic. Journal of Clinical Microbiology; Vol.36, No.1:110-114, 1998.

22. Stork K, Bienzle U, Hess G , et al. Detection of the hepatitis G virus genome among injecting drug users, homosexual and bisexual men, and blood donors. *J Infect Dis* ; 174: 1320-1323,1996.
23. Martino M, Azzari C, Resti M , et al. Hepatitis G virus infection in Human Immunodeficiency Virus Type 1 infected mothers and their children. *J Infect Dis* ; 178: 862-865, 1998.
24. Nerurkar VR, Chua PK, Hoffmann PR , et al. High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus infection among homosexual men infected with Human Immunodeficiency Virus Type 1: Evidence for sexual transmission. *J Med Virol* ;56: 123-127, 1998.
25. Skidmore SJ, Collingham KE. Prevalence of GB virus C/hepatitis G virus infection in an antenatal population. *Journal of Medical Virology*; 57:235-237, 1999.
26. Inigo ER, Tomas JF, Garcia de Soria VG , et al. Hepatitis C and G virus infection and liver dysfunction after allogeneic bone marrow transplantation : results from a prospective study. *Blood*; Vol. 90, No.3 : 1326-1331, 1997.
27. Handa A, Jubran RF, Dickstein B, et al. GB virus C/ Hepatitis G virus infection is frequent in american children and young adults. *Clinical Infectious Disease* ; 30: 569-71, 2000.
28. Menendez C, Sanches-Tapias JM, Alonso PL, et al. Molecular evidence of mother to infant transmission of Hepatitis G virus among women without known risk factors for parenteral infections. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol. 37, No.7 : 2333-36, 1999.
29. Konomi N, Miyoshi C, Zerain CLF , et al. Epidemiology of Hepatitis B, C,E and G virus infections and molecular analysis of hepatitis G virus isolates in Bolivia. . *Journal of Clinical Microbiology*; Vol. 37, No.10: 3291-95, 1999.
30. Kobayashi M, Tanaka E, Nakayama J, et al. Detection of GB virus C/hepatitis G virus genome in peripheral blood mononuclear ceels and liver tissue. *Journal of Medical Virology*; 57: 114-121, 1999.
31. Laskus T, Radkowski M, Wang LF , et al. Detection of hepatitis G virus replication sites by using highly strand-specific Tth based reverse transcriptase PCR. *J Virol* ; Vol.72, No. 4: 3072-3075, 1998.
32. Madejon A, Fogeda M, Bartolome J , et al. GB virus C RNA in serum, liver and peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis B, C and D. *Gastroenterol* ; 113: 573-578, 1997.
33. Tucker TJ, Smuts HEM, Eedes C , et al. Evidence that the GBV-C/hepatitis G virus is primarily a lymphotropic virus. *Journal of Medical Virology*; 61:52-58, 2000.
34. Berg T, Müller AR, Platz KP , et al. Dynamics of GB virus C viremia early after orthotopic liver transplantation indicates extrahepatic tissues as the predominant site of GB virus C replication. *Hepatology*; Vol 29, No.1: 245-249, 1999.
35. Fogeda M, Lopez-Alcorocho JM, Bartoome J , et al. Existence of distinct GB virus C/ hepatitis G virus variants with different tropism. *Journal of Virology*; Vol.74, No.17 : 7936-7942, 2000.
36. Akbulut A. HAV enfeksiyonu. Kılıçturgay K, (ed). *Viral Hepatit 98*, 1. Baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 42-64, 1998.
37. Xiang J, Stapleton JT. Hepatitis A virus. İn : Murray PR, Baron EJO, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manuel of Clinical Microbiology*. 7<sup>th</sup> ed. Washington, ASM press. 1014-24, 1999.
38. Badur S. Hepatit A virusu. Ustaçelebi Ş (ed). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1. baskı. Ankara : Güneş Kitabevi, 895-900,1999.
39. Vento S, Garofano T, Renzini C , et al. Fulminant hepatitis associated hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *The New England Journal of Medicine*; Vol. 338, No. 5: 286-290, 1998.
40. Mıstık R, Balık İ. Türkiye'de viral hepatitlerin epidemiyolojik analizi. Kılıçturgay K, Badur S, (ed). *Viral Hepatit 2001*, 1. Baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 9-55, 2001.



41. Worman HJ. Molecular biological methods in diagnosis and treatment of liver diseases. *Clinical Chemistry* ; 43: 1476-1486, 1997.
42. Hollinger FB, Dienstag JL. Hepatitis B and D viruses. In : Murray PR, Baron EJO, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 7<sup>th</sup> ed. Washington, ASM press. 1025-42, 1999.
43. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin. Microbiol. Rev*; 12: 351-366,1999.
44. Bilgiç A, Özacar T. Hepatit B ve D virusları. Ustaçelebi Ş (ed). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1. baskı. Ankara : Güneş Kitabevi, 871-880,1999.
45. Lei X, Shigeko N, Deng X., et al. GB virus C/hepatitis G virus infection in Chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology Research* ;16:91-97, 2000.
46. Moradpour D, Wands JR: Understanding Hepatitis B Virus infection. *N Eng J Med*; 332:1092-1093,1995.
47. Taşyaran MA. HBV enfeksiyonu epidemiyoloji. Kılıçturgay K, (ed). *Viral Hepatit 98*, 1. Baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 94-100, 1998.
48. Robinson WS. Hepatitis B virus and D virus . in: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) *Principles and practice of infectious diseases*. Fourth edition , New York: Churcill Livingstone,1406-1439,1995.
49. Kurt H. HBV enfeksiyonu klinik bulgular. Kılıçturgay K, (ed). *Viral Hepatit 98*, 1. Baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 101-106, 1998.
50. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Viral superinfection in previously unrecognized chronic carriers of hepatitis B virus with superimposed acute fulminant versus nonfulminant hepatitis. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.37, No.1: 235-237, 1999.
51. Abacıoğlu H. Hepatit C virusu. Ustaçelebi Ş, (ed). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1. Baskı. Ankara :Güneş Kitabevi, 881-888, 1999.
52. Türkoğlu S. HCV enfeksiyonu, viroloji ve seroloji. Kılıçturgay K, (ed). *Viral Hepatit 98*, 1. Baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 139-147, 1998.
53. Houghton M, Weiner A, Han J , et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implication diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology*; 14: 381-388, 1991.
54. Fong TL, Shindo M, Feinstone SM , et al. Detection of replicative intermediates of hepatitis C viral RNA in liver and serum in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Invest*; 88: 1058-1060, 1991.
55. Chan SW, McOmish F, Holmes EC, , et al. Analysis of a new hepatitis C virus type and its phylogenetic relationship to existing variants. *J Gen Virol* ; 73:1131-1141, 1992.
56. Tokita H, Okamoto H, Tsuda F, , et al. Hepatitis C virus variants from Vietnam are classifiable into the seventh, eighth, and ninth major genetic groups. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 91:11022-11026,1994.
57. Abacıoğlu H. Hepatit C virusunun virolojik ve moleküler özellikleri. *Aktüel Tıp Dergisi* ; 2:143-150, 1997.
58. Zein NN. Clinical Significance of Hepatitis C Virus Genotypes. *Clin. Microbiol. Rev*;13: 223-235, 2000.
59. Akkız H. HCV enfeksiyonu, epidemiyoloji ve korunma. Kılıçturgay K, (ed). *Viral Hepatit 98*, 1. Baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, 148-161, 1998.
60. Türkoğlu S. Hepatit C virusu enfeksiyonlarında polimeraz zincir reaksiyonu. Türkoğlu S, Badur S (ed). *Enfeksiyon Hastalıkları Tanısında PCR*, 1. Baskı. İstanbul : Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, 35-42, 1995.
61. Mast EE, Alter MJ, Margolis HS. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections: a global perspective. *Vaccine*; Vol.17, No. 13-14: 1730-1733, 1999.
62. Beard MR, MacNaughton TB, Gowans EJ. Identification and characterization of a hepatitis delta virus RNA transcriptional promoter. *J. Virol*; 70:4986-4995, 1996.
63. Casey JL. Hepatitis delta virus: genetics and pathogenesis. *Clin. Lab. Med*; 16: 451-464, 1996.

64. Eroğlu C. HDV epidemiyoloji. Kılıçturgay K, (ed). Viral Hepatit 98, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 180-181, 1998.
65. Sünbül M. HDV tedavi ve korunması. Kılıçturgay K, (ed). Viral Hepatit 98, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 186-188, 1998.
66. Durmaz R. Hepatit E virusu. Ustaçelebi Ş, (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1. Baskı. Ankara :Güneş Kitabevi, 889-893, 1999.
67. Ertürk M. HEV enfeksiyonu. Kılıçturgay K, (ed). Viral Hepatit 98, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 189-192, 1998.
68. Tam AW, White R, Yarbough PO , et al. In vitro infection and replication of hepatitis E virus in primary cynomolgus macaque hepatocytes. *Virology* ; 238: 94-102, 1997.
69. Purcell RH, Emerson SV. Hepatitis E virus. in: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) *Principles and practice of infectious diseases. Fifth edition* , New York: Churcill Livingstone,1958-1966, 1995.
70. Berke T, Golding B, Jiang X , et al. Phylogenetic analysis of the Caliciviruses. *J Med Virol* ; 52: 419-424, 1997.
71. Aydın K. HEV epidemiyoloji. Kılıçturgay K, (ed). Viral Hepatit 98, 1. Baskı. Viral Hepatitle Savaşım Derneği, 193-199, 1998.
72. Thomas DL, Mahley RW, Badur S , et al. Epidemiology of hepatitis E virus infection in Turkey. *Lancet* ;341:1561-1562, 1993.
73. Badur S, Yenen OŞ, Yüksel D, Işık NH. Çeşitli gruplarda ve normal popülasyonda E hepatiti seroprevelansı. *Klinik Dergisi* ; 8: 10-12, 1995.
74. Ayaz C, Merdan S, Çümen B, Arıtürk S. Diyarbakır ili iki ayrı semtinde 7-17 yaş grubu çocuklarda anti-HEV seropozitifliğinin karşılaştırılması. *Viral Hepatit Derg* ;1: 35-37, 1996.
75. Değertekin H, Yükselen V, Dalgıç G, Badur S. Güneydoğu Anadolu'da anti-HEV seropozitifliği. *Viral Hepatit Derg* ; 1: 42-45, 1995.
76. Zuckerman AJ. The new GB hepatitis viruses. *Lancet* ; 345: 1453-1454, 1995.
77. Khudyakov YE, Cong ME, Bonafonte MT , et al. Squence variation within a nonstructural region of the Hepatitis G virus genome. *Journal of Virology*; Vol.71, No.9 : 6875-6880, 1997.
78. Zanetti AR, Tonzi E, Romano L , et al. GBV-C/HGV a new human hepatitis related virus. *Res Virol* ;148: 119-122, 1997.
79. Simons NJ, Pilot-Matias JT, Leary PT , et al. Identification of two Flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proct Natl Acad Sci USA* ;95:3401-3405, 1997.
80. Pekbay A. Hepatit G virusu. *Mikrobiyol Bült*; 33 : 63-74, 1999.
81. Alter HJ. The cloning and clinical implications of HGV and HGBV-C. *The New England Journal of Medicine* ; Vol. 334, No. 23: 1536-37, 1996.
82. Schlueter V, Schmolke S, Stark K , et al. Reverse transcription PCR detection of hepatitis G virus. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.34, No.11: 2660-2664, 1996.
83. Leary PT, Muerhoff SA, Simons NJ , et al. Sequence and genomic organization of GBV-C:A novel member of the Flaviviridae associated with human non A-E hepatitis. *J Med Virol* ; 48: 60-67,1996.
84. Heringlake S, Osterkamp S. Association between fulminant hepatic failure and a strain of GBV virus C. *Lancet* ;348: 1626-29, 1996.
85. Xiang J, Klinzman D, Mc Linden J , et al. Characterization of Hepatitis G virus ( GB-C Virus) particles: Evidence for a nucleocapsid and expression of sequences upstream of the E1 protein. *Journal of Virology* ; Vol. 72, No. 4: 2738-44, 1998.
86. Belyaev AS, Chong S, Novikov A , et al. Hepatitis G virus encodes protease activities which can effect processing of the virus putative nonstructural proteins. . *Journal of Virology* ; Vol. 72, No.1: 868-872, 1998.
87. Gwack Y, Yoo H, Song I, et al. RNA stimulated ATPase and RNA helicase activities and RNA binding domain of hepatitis G virus nonstructural protein 3. *Journal of Virology*; Vol.73, No.4: 2909-2915, 1999.

88. Simmonds P and Smith DB. Structural constraints on RNA virus evolution. *Journal of Virology*; Vol.73, No.1 : 5787-5794, 1999.
89. Hsieh SY, Yang PY, Chen HC , et al. Cloning and characterization of the extreme 5-terminal sequences of the Rna genomes of GB virus C/ hepatitis G virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; Vol. 94: 3206-10, 1997.
90. Schmolke S, Tache M, Schmitt U , et al. Identification of hepatitis G virus particles in human serum by E2- specific monoclonal antibodies generated by DNA immunization. *Journal of Virology* ; Vol. 72, No. 5: 4541-45, 1998.
91. Pessoa MG, Terrault NA, Detmer J , et al. Quantitation of hepatitis G and C viruses in the liver: evidence that hepatitis G virus is not hepatotropic. *Hepatology* ;Vol.27, No.3 :877-880, 1998.
92. Liu HF, Muyembe-Tamfum JJ, Dahan K, et al. High prevalence of GB virus C/ hepatitis G virus in Kinshasa, Democratic Republic of Congo: a phylogenetic analysis. *Journal of Medical Virology*; 60:159-165, 2000.
93. Nakao H, Okomato H, Fukuda M , et al. Mutation rate of GB virus C/hepatitis G virus over the entire genome and in subgenomic regions. *Virology* ;233:43-50, 1997.
94. Cong M, Fried WM, Lambert S , et al. Sequence heterogeneity within three different regions of the hepatitis G virus genome. *Virology* ; 255: 250-259, 1999.
95. Ding M, Yuwen H, Mitchell F , et al. Sequence characterization of the 5' noncoding region of GB virus C/hepatitis G virus. *Bioch Bioph Res Comm* ; 231:606-609, 1997.
96. Viazov S, Riffelmann M, Khaudyakov Y , et al. Genetic heterogeneity of hepatitis G virus isolates from different parts of the world. *J Gen Virol* ; 78: 577-581, 1997.
97. Lopez -Alcorocho JM, Castillo I, Tomas JF, et al. Identification of a novel GB type C virus/ hepatitis G virus subtype in patients with hematologic malignancies. *Journal of Medical Virology*; 57:80-84, 1999.
98. Lu L, Ng MH, Zhou BP , et al. Detection and genotyping of GBV-C/HGV variants in China. *Virus Research* ; Vol. 73, No.2 :131-144, 2001.
99. Natio H, Win KH, Abe K. Identification of a novel Hepatitis G Virus in Southeast Asia. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.37, No.4:1217-1220, 1999.
100. Alter MJ, Gallagher M, Morris TT , et al. Acute non A-E hepatitis in the United States and the role of hepatitis G virus infection. *The New England Journal of Medicine*; Vol. 336, No.11: 741-746, 1997.
101. Abe K, Edamoto Y, Park YN , et al. In situ detections of hepatitis B, C and G virus nucleic acids in human hepatocellular carcinoma tissues from different geographic regions. *Hepatology* ;Vol.28,No.2 :568-72, 1998.
102. Kaymakoğlu S, Türkoğlu S, Demir K ve ark. Kronik karaciğer hastalığı ve hepatit G enfeksiyonu: Prevalansı, klinik bulgular ve interferon tedavisine etkisi. *Viral Hepatit Derg.*; 2: 90-93, 1997.
103. Prati D, Zanella A, Bosoni P , et al. The incidence and natural course of transfusion-associated GB Virus C/Hepatitis G Virus infection in a cohort of thalassemic patients. *Blood*; Vol. 91 no.3: 774-777, 1998.
104. Bukh J, Kim PJ, Govindarajan S , et al. Experimental infection of chimpanzees with hepatitis G virus and genetic analysis of virus. *J Infect Dis* ; 177: 855-862, 1998.
105. Fogeda M, Navas S, Martin J, et al. In vitro infection of human peripheral blood mononuclear cells by GB virus C/ Hepatitis G virus. *Journal of Virology* ; Vol. 73, No. 5 : 4052-61, 1999.
106. Thomas DL, Nakatsuji Y, Shih JW , et al. Persistence and clinical significance of hepatitis G virus infections in injecting drug users. *J Infect Dis* ;176:586-592, 1997.
107. Tacke M, Kiyosawa K. Detection of antibodies to a putative hepatitis G virus envelope protein. *Lancet*; Vol.349: 318-320, 1997.
108. Francesconi R, Giostra F, Ballardini G , et al. Clinical implications of GBV-C/HGV infection in patients with "HCV-related" chronic hepatitis. *J Hepatol* ; 26: 1165-1172, 1997.

109. Saito S, Tanaka K, Kondo M, et al. Plus -and minus-stranded hepatitis G virus RNA liver tissue and in peripheral blood mononuclear cells. *Bioch Bioph Res Comm* ; 237:288-291, 1997.
110. Rodkowski M, Wang LF, Varson H, et al. Lack of evidence for GB virus C/hepatitis G virus replication in peripheral blood mononuclear cells. *Journal Hepatology*;28:179-183, 1998.
111. Handa A, Brown KE. GB virus C/ hepatitis G virus replicates in human haemopoietic cells and vascular endothelial cells. *Journal of General Virology* ; 81: 2461-2469,2000.
112. Ikeda M, Sugiyama K, Mizutana T, et al. Hepatitis G virus replication in human cultured cells displaying susceptibility to hepatitis C virus infections. *Bioch Bioph Res Comm* ; 235:505-508, 1997.
113. Linnen J, Wages J, Zhang-Keck YZ, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science* ; 271: 505-508, 1996.
114. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, et al. The incidence of transfusion associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *The New England Journal of Medicine*; Vol. 336, No. 11: 747-754, 1997.
115. Osaki MY, Sumazaki R, Tsuchida M, et al. Persistence and clinical outcome of hepatitis G virus infection in pediatric bone marrow transplant recipients and children treated for hematological malignancy. *Blood*; Vol. 93, No. 2: 721-727, 1999.
116. Saiz JC, Sans M, Mas A, et al. Hepatitis G virus infection in fulminant hepatic failure. *Gut*; 41:696-699, 1997.
117. Guilera M, Saiz JC, Lopez- Labrador FX, et al. Hepatitis G virus infection in chronic liver disease. *Gut*; 42 : 107-111,1998.
118. Rodriguez-Inigo E, Tomas JF, Garcia de SoriaVG, et al. Hepatitis C and G virus infection and liver dysfunction after allogeneic bone marrow transplantation: Results from a prospective study. *Blood* ; Vol. 90, No.3: 1326-1331, 1997.
119. Abe K, Mariyama M, Hayashi S et al. Prevalence of hepatitis G virus infection among patients with liver diseases in Japon. *Hepatology Communications*;6:239-248, 1997.
120. Lefrere JJ, Thoraval FR, Joubert JM, et al. Carriage of GB virus C/hepatitis G virus RNA is associated with a slower immunologic, virologic, and clinical progression of Human Immunodeficiency Virus disease in coinfecting persons. *J Infect Dis* ; 179: 783-789, 1999.
121. Xiang J, Wünschmann S, Schmidt W, et al. Full-length GB virus C (hepatitis G virus) RNA transcripts are infectious in primary CD4-positive T cells. *J Virol* ; Vol.74, No. 19: 9125-9133, 2000.
122. Tribl B, Schöniger M, Petermann D, et al. Prevalance of GBV-C/ HGV-RNA, virus genotypes, and Anti-E2 antibodies in autoimmune hepatitis. *The American Journal of Gastroenterology*; Vol. 94, No. 11: 3336-40, 1999.
123. Ichijo T, Nakatsuji Y, Tanaka E, et al. Autoimmune hepatitis type I without evidence of hepatitis G virus infection. *International Hepatology Communications*; 6: 219-224, 1997.
124. Feucht HH, Schröter M, Zöllner B, et al. Age dependent acquisition of hepatitis G virus/GB virus C in a nonrisk population: detection of the virus by antibodies. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.37, No.5: 1294-1297, 1999.
125. Lara C, Halasz R, Sönnernborg A, et al. Detection of hepatitis G virus RNA in persons with and without known risk factors for blood-borne viral infections in Sweden and Honduras. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.36, No.1: 255-257, 1998.
126. Chen M, Sönnernborg A, Johansson B, et al. Detection of Hepatitis G virus (GB virus C) RNA in human saliva. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol. 35, No.4 : 973-975, 1997.

127. Schröter M, Polywka S, Zöllner B , et al. 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. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.38,No.2:745-47, 2000.
128. Romano L, Fabris P, Tanzi E , et al. GBV-C/hepatitis G virus in acute nonA-E hepatitis and in acute hepatitis of defined aetiology in Italy. *Journal of Medical Virology*; 61:59-64, 2000.
129. Sauleda S, Rio J, Montalban X , et al. Lack of association between Hepatitis G virus and multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; 64 : 283-284, 1998.
130. Kiem HP, Mayerson D, Storb R , et al. Prevalance of hepatitis G virus in patients with aplastic anemia. *Blood*; Vol. 90, No.3:1335-1336, 1997.
131. Zaidi Y, Chapman CS, Myint S. Aplastic anaemia after HGV infection. *Lancet* ; 348: 471, 1996.
132. Byrnes JJ, Banks AT, Piatak M, et al. Hepatitis G associated Aplastic anaemia. *Lancet* ; 348: 472, 1996.
133. Pujol FH, Khudyakov YE, Devesa M , et al. Hepatitis G virus infection in Amerindians and other Venezuelan high risk groups. . *Journal of Clinical Microbiology*; Vol. 36, No.2 : 470-74, 1998.
134. Strasser SI, McDonald GB. Hepatitis viruses and hematopoietic cell transplantation: A guide to patient and donor management. *Blood* ;Vol.93, No. 4: 1127-1136, 1999.
135. Miyakawa Y, Mayumi M. Hepatitis G virus - A true hepatitis virus or an accidental tourist? *N Engl J Med* ;336:795-796, 1997.
136. Woelfle J, Berg T, Bialek R , et al. GB virus C/hepatitis G virus infection in HIV infected patients haemophilia despite treatment with virus inactivated clotting factor concentrates. *Arch Dis Child* ; 80: 429-432, 1999.
137. Schmidt B, Korn K, Fleckenstein B. Molecular evidence for transmission of hepatitis G virus by blood transfusion. *Lancet* ;347: 909, 1996.
138. Dimontis I, Bassetti S, Erb P, et al. High prevalence and coinfection rate of hepatitis G and C infections in intravenous drug addicts. *Journal of Hepatology*; Vol.26, No.4: 794-797, 1997.
139. Gerolami V, Halfon P, Chambost H , et al. Prevalence of hepatitis G virus RNA in a monocentric population of French haemophiliacs. *Br J Haematol* ; 99: 209-214, 1997.
140. Lamballerie X, Dussol B. Hepatitis GB virus C in patients on hemodialysis. *The New England Journal of Medicine* ;Vol. 334, No. 23: 1549, 1996.
141. Perez-Gracia T, Galan F, Giron-Gonzalez JA , et al. Detection of hepatitis G virus (HGV) RNA and antibodies to the HGV envelope protein E2 in a cohort of hemodialysis patients. *Journal of Clinical Microbiology* ; Vol.38, No. 11:4277-4279, 2000.
142. Desassis JF, Laperche S, Girault A , et al. Prevalence of present and past hepatitis G virus infection in a French haemodialysis centre. *Nephrol Dial Transplant* ; 14: 2692-2697, 1999.
143. Semprini AE, Persico T, Thiers V , et al. Absence of hepatitis C virus and detection of hepatitis G virus/GB virus C RNA sequence in the semen of infected men. *J Infect Dis* ; 177: 848-854, 1998.
144. Ishikawa K, Okajima Y, Inaba N. Hepatitis G virus infection in Japanese pregnant women. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*; 60: 59-60, 1998.
145. Fischler B, Lara C, Chen M , et al. Genetic evidence for mother-to-infant transmission of hepatitis G virus. *J Infect Dis* ; 176: 281-285, 1997.
146. Horsmans Y, Karayiannis P, Christophe JL, et al. Severe exacerbation of liver disease during pregnancy in a thalassaemic GBV-C/HGV positive patient and neonatal hepatitis in offspring. *Journal of Medical Virology*; 57:122-125, 1999.
147. Lin HH, Kao JH, Yeh KY , et al. Mother-to-infant transmission of GB virus C/hepatitis G virus: The role of high titered maternal viremia and mode of delivery. *J Infect Dis* ; 177: 1202-1206, 1998.

148. Chen HL, Chang MH, Lin HH, et al. Antibodies to E<sub>2</sub> protein of hepatitis G virus in children: Different responses according to age at infection. *J Pediatr*; 133: 382-385, 1998.
149. Pontali E, Pedemonte P, Basetti M, et al. Does HGV-HIV co-infection exist? *International Journal of Antimicrobial Agents*; Vol.16, No.3: 349-351, 2001.
150. Cesaire R, Martial J, Maier H, et al. Infection with GB virus C/ hepatitis G virus among blood donors and hemophiliacs in Martinique, a Caribbean Island. *J Med Virol*; 59(2): 160-163, 1999.
151. Pinho JRR, Zanotto PM, Ferreira JP, et al. High prevalence of GB virus C in Brazil and molecular evidence for intrafamilial transmission. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol. 37, No. 5:1634-1637, 1999.
152. Anastassopoulou CG, Paraskevis D, Tassopoulos NC, et al. Molecular epidemiology of GB virus C/hepatitis G virus Athens, Greece. *J Med Virol*; 61(3):319-326, 2000.
153. Kinoshita T, Miyake K, Nakao H, et al. Molecular investigation of GB virus C infection in hemophiliacs in Japan. *The Journal of Infectious Diseases*; 175: 454-57, 1997.
154. Rey D, Fraize S, Vidinic J, et al. High prevalence of GB virus C/ hepatitis G virus RNA in patients infected with human immunodeficiency virus. *Journal of Medical Virology*; 57:75-79, 1999.
155. Uzunalimoğlu Ö, Bozdayı AM, Bozkaya S ve ark. Multipl transfüzyon yapılan hastalarda HGV-RNA prevalansı. *Gastroenteroloji*; 7 (1 ek) :9, 1996.
156. Okuda M, Hino K, Korenaga M, et al. GB virus C/hepatitis G viremia and antibody response to the E2 protein of hepatitis G virus in hemodialysis patients. *J Clin Gastroenterol*; 30(4): 425-428, 2000.
157. Furusyo N, Hayashi J, Ariyama I, et al. Lower hepatitis G virus infection prevalence compared to hepatitis B and C virus infection prevalences. *Dig Dis Sci*; 45(1): 188-195, 2000.
158. Fabrizi F, Lunghi G, Pozzi C, et al. GBV-C/HGV infection in end-stage renal disease: a serological and virological survey. *J Nephrol*; 13(1): 68-74, 2000.
159. Matzkies FK, Bahner U, Weizenegger M, et al. Prevalence of hepatitis G in patients on chronic hemodialysis. *Clin Lab*; 46(5-6): 247-250, 2000.
160. Forns X, Tan D, Alter HJ, et al. Evaluation of commercially available in house reverse transcription PCR assays for detection of hepatitis G virus or GB virus C. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.35, No.10: 2698-2702, 1997.
161. Schröter M, Feucht HH, Schafer P, et al. GB virus C/ hepatitis G virus infection in hemodialysis patients: determination of seroprevalence by a four antigen recombinant immunoblot assay. *Journal of Medical Virology*; 57:230-234, 1999.
162. Nagata I, Tzampouras N, Chokshi S, et al. Hepatitis GB virus-C/hepatitis G virus infection in liver disease. *Arch Dis Child*; 77:223-226, 1997
163. Brojer E, Grabarczyk P, Kryczyka W, et al. Analysis of hepatitis G virus infection markers in blood donors and patients with hepatitis. *J Viral Hepat*; 6(6): 471-475, 1999.
164. Uygun A, Kadayıfci A, Kubar A, et al. Insignificant role of hepatitis G virus infection in patients with liver enzyme elevations of unknown etiology. *J Clin Gastroenterol*; 31(1): 73-76, 2000.
165. Tanaka E, Alter HJ, Nokatsuji Y, et al. Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. *Ann Intern Med*; 125:740-743, 1996.
166. Feucht HH, Zöllner B, Polywka S, et al. Prevalence of hepatitis G viremia among healthy subjects, individuals with liver disease and persons at risk for parenteral transmission. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.35, No.3: 767-768, 1997.
167. De Filippi F, Colombo M, Rumi MG, et al. High rates of hepatitis G virus infection in multitransfused patients with hemophilia. *Blood*; Vol. 90, No. 11: 4634-4637, 1997.
168. Mauser-Bunschoten EP, Damen M, Zaaijer HL, et al. Hepatitis G virus RNA and hepatitis G virus-E2 antibodies in Dutch hemophilia patients in relation to transfusion history. *Blood*; Vol.92, No.6: 2164-2168, 1998.

169. Hassoba HM, Terrault NA, El-Gohary AM, et al. Antibody to GBV-C second envelope glycoprotein (anti-GBV-C E2) : is it a marker for immunity? *Journal of Medical Virology*; 53: 354-360, 1997.
170. Bogard M, Janvresse CB, Cantaloube JF, et al. GEMHEP multicenter quality control study of PCR GB virus C/hepatitis G virus RNA in serum. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.35, No.12: 3298-3300, 1997.
171. Andonov A, Sauder C, Jacobsen H, et al. Comparison of six sets of PCR primers from two different genomic regions for amplification of GB virus C/hepatitis G virus RNA. *Journal of Clinical Microbiology*; Vol.36, No.1: 286-289, 1998.
172. Fanson GF, Osmack P, Di Bisceglie AM. A comparison between the phenol-chloroform method of RNA extraction and the QIAamp viral RNA kit in the extraction of hepatitis of hepatitis C and GB virus-C/hepatitis G viral RNA from serum. *Journal of Virological Methods*; 89: 23-27, 2000.
173. Dille BJ, Surowy TK, Gutierrez RA, et al. An ELISA for detection of antibodies to the E2 protein of GB virus C. *The Journal of Infectious Diseases*; 175: 458-61, 1997.
174. Hwang SJ, Lu RH, Chan CY, et al. Detection of antibodies to E2 protein of GB virus C/ hepatitis G virus in patients with acute posttransfusion hepatitis. *Journal of Medical Virology*; 57:85-89, 1999.
175. Toniutto P, Fabris C, Barbone F, et al. Immunoreactivity to putative B-cell epitopes of hepatitis G virus polyprotein in viremic and nonviremic subjects. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*; Vol. 6, No.4: 573-576, 1999.
176. Karahan AG, Cicioğlu Arıdoğan B, Çakmakçı ML. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu. 1. Baskı. Süleyman Demirel Üniversitesi Basımevi, Isparta, 2002
177. Cappuccino JG, Sherman N. *Microbiology a Laboratory Manuel*. Fifth ed. Benjamin Cumminos Science Publishing, New York, 1998.
178. Wistreich GA. *Microbiology Laboratory fundamentals and applications*. Fifth ed. Prentice Hall, Los Angeles, 1997.
179. Eisenstein BI. The polymerase chain reaction: a new method of using molecular genetics for medical diagnosis. *NEJM* ; 332:178-183, 1990.
180. Mullis K. Unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* ;262: 56-65, 1990.
181. Arnheim N, White T. The application of PCR: organismal and population biology. *Bioscience* ;40:174-182, 1990.
182. Xiang X, Qui D, Hegele RD et al. Comparison of different methods of total RNA extraction for viral detection in sputum. *Journal of Virological Methods*; 94(1-2):129-135, 2001.
183. Paabo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning and enzymatic amplification. *Proc Natl Acad Sci USA*;86: 1939-1943.
184. Walker GT, Little MC, Nadeau JG et al. Isothermal in vitro amplification of DNA by a restriction enzyme/DNA polymerase system. *Proc Natl Acad Sci USA*;89: 392-396, 1992.
185. Arens M. Methods for subtyping and molecular comprison of human viral genomes. *Clinical Microbiology Reviews* ; Vol.12, No.4:612-626, 1999.
186. Broketa M, Vince A, Dra Enovi V et al. Non-radioactive digoxigenin DNA labeling and immunologic detection of HSV PCR products. *Journal of Clinical Virology*; 23 (1-2): 17-23, 2001.
187. Gimenez-Barcons M, Sanchez Fueyo A, Ampurdanes S, et al. Genetic evolution of GB virus C/hepatitis G virus(GBV-C/HGV) under interferon pressure. *Antiviral Research* ; Vol.46, No.2: 157-170, 2000.
188. Moriyama M, Zi-Yi Z, Langren W, et al. Clínico-epidemiological study of GBV-C/HGV infection in Tokyo metropolitan, and Nanjing and Yanbron cities in the people's Republic of China. *Hepatology Research*; 21(3): 268-279, 2001.

189. Pank YM, Mizokami M, Nakano T, et al. GB virus C/hepatitis G virus infection among Korean patients with liver diseases and general population. *Virus Research*; Vol.48, No.2:185-192, 1997.
190. Inoue K, Yoshida M, Sekiyama K and Kohara M. Possible association between serum GB virus C RNA level and disease activity in fulminant hepatitis type G. *Journal of Hepatology*; 30: 801-806, 1999.
191. Jarvis LM, Davidson F, Hanley JP, et al. Infection with hepatitis G virus among recipients of plasma products. *Lancet* ; 348: 1352-1355, 1996.
192. Saitoh H, Moriyama M, Matsumura H, et al. The clinical significance of GBV-C/HGV exposure in C-viral chronic liver disease and blood donors. *Hepatology Research*; 22: 288-296, 2002.
193. Zuin G, Sacconi B, Di Giacomo S, et al. Outcome of mother to infant acquired GBV-C/HGV infection. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed*; 80: 72-73, 1999.
194. Wolff C, Kruppa T, Dreier J , et al. Rapid elimination of GB virus C (Hepatitis G virus) in the mosquito *Aedes aegypti*. *Microbes and Infection* ;Vol.3, No.9: 683-687, 2001.
195. Kaya S, Demirci M, Cicioğlu Ardoğan B, Adiloğlu AK. Isparta bölgesi kan donörlerinde HBsAg ve anti-HCV prevalansı. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 30 Eylül-5 Ekim 2002, Antalya; poster. P06-08.
196. Farci P, Alter HJ, Shimoda A , et al. Hepatitis C virus associated fulminant hepatic failure. *The New England Journal of Medicine*; Vol. 335, No. 9: 631-634, 1996.
197. Sarrazin C, Herrmann G, Roth WK, et al. Prevalence and clinical and histological manifestation of hepatitis G/GBV-C infections in patients with elevated aminotransferases of unknown etiology. *Journal of Hepatology*; 27: 276-283, 1997.
198. Anastassopoulou CG, Delladetsima JK, Anagnostopoulos G, et al. Fulminant hepatic failure in a pediatric patient with active GB virus C (GBV-C)/hepatitis G virus (HGV) infection. *Hepatology Research*; 23: 85-89, 2002.
199. Kao JH, Chen W, Chen PJ , et al. GB virus C/hepatitis G virus infection in prostitutes: Possible role of sexual transmission. *J Med Virol* ; 52: 381-384, 1997.
200. Abraham P, Hallett R, Radhakrishnan S, et al. Hepatitis G virus genotypes in a tertiary care centre in Southern India. *Journal of Clinical Virology*; 2002.
201. Sergi C, Jundt K, Seipp S, et al. The distribution of HBV, HCV and HGV among livers with fulminant hepatic failure of different aetiology. *Journal of Hepatology*; 29: 861-871, 1998.
202. Chu CW, Hwang SJ, Luo JC , et al. Clinical, virological, immunological, and pathological significance of GB virus C/ hepatitis G infection in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology Research* ; 19: 255-236, 2001.
203. Tillmann HL and Manns MP. GB virus-C infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Antiviral Research*; 52: 83-90, 2001.