

HBsAg Pozitif Kan Donörlerinde HDV'nin Serolojik ve Moleküler Yöntemler Kullanılarak Araştırılması

Investigation of HDV in Positive HBsAg Blood Donors by Serological and Molecular Methods

Dr. Sevim MEŞE^a
Dr. Heval BİLEK^a
Dr. Barış GÜLHAN^a
Dr. Kendal YALÇIN^a
Dr. Kadri GÜL^a

^aMikrobiyoloji AD,
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

Geliş Tarihi/Received: 29.12.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 01.04.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Sevim MEŞE
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji AD, Elazığ
TÜRKİYE/TURKEY
semese@dicle.edu.tr

ÖZET Amaç: Hepatit delta virüsü (HDV) defektif bir RNA virüsü olup, replikasyon için hepatit B virüsüne (HBV) gereksinim duymaktadır. Bu nedenle HDV ancak HBV ile enfekte bireyler arasında bulaş gösterebilir. HDV, HBV gibi çoğunlukla yüksek kan ve kan ürünlerinin parenteral verilmesiyle daha az oranda vücut sıvıları ile yakın temas veya cinsel yolla bulaşmaktadır. Bu çalışmada, HBsAg pozitifliği saptanan gönüllü kan donörlerinde serolojik ve moleküler yöntemlerle HDV'nin araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada gönüllü kan donörlerinin taranması sonucu HBV yüzey antijen (HBsAg) pozitifliği saptanan 160 bireyde enzim immünoassay (EIA) yöntemi ile total anti-delta antikor ve real time revers transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) yöntemi ile HDV-RNA araştırılmıştır. **Bulgular:** Çalışmanın sonucunda 4882 kan donöründe %3.28 (160/4882) oranında HBsAg pozitif olarak bulunmuştur. HBsAg pozitif 160 serum örneğinin 14 (%8.75)'ünde total anti-delta antikorları pozitif olarak saptanmıştır. Total anti-delta antikorları pozitif bulunan 14 örneğin sadece 2 (%14.29)'inde HDV-RNA pozitifliği elde edilmiştir. Total anti-delta antikorları negatif örneklerin hiçbirinde HDV-RNA saptanmamıştır. Böylece tüm HBsAg pozitif donörler arasında HDV-RNA pozitifliğinin %1.25 (2/160) olduğu belirlenmiştir. **Sonuç:** Bölgemizde HBV enfeksiyon prevalansının yüksek olması nedeni ile, HBsAg pozitif saptanan gönüllü kan donörlerinin aynı zamanda HDV enfeksiyonu yönünden de araştırılması uygun olacaktır. Serum örneklerinde serolojik yöntemler kullanılarak anti-delta antikorunun saptanması güvenli bir tanı için yeterli olabilir. Ancak gerçek viremiyi, oldukça duyarlı bir yöntem olan RT-PCR yöntemi kullanılarak serumda HDV-RNA'nın saptanmasıyla göstermek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Kan donörleri, hepatit B yüzey antijeni, hepatit delta virüsü, tanı

ABSTRACT Objective: Hepatitis delta virus (HDV) is a defective RNA virus and it needs hepatitis B virus for replication. Thus, contamination of HDV is possible to people already infected by HBV. HDV can be transmitted mostly by blood and blood products and with a rather less ratio by body fluids or sexual contacts. In this study it has been aimed to explore HDV in blood donors, who was determined to have HBsAg positivity, using serological molecular methods. **Material and Methods:** In this study using Enzyme immunoassay (EIA) method total anti-Delta antibody and using real time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) method HDV RNA in 160 people who had HBV surface antigen (HBsAg) positivity which was determined as a consequence of the scanning of the blood donors are investigated. **Results:** In 4882 scanned blood donors a ratio of 3.28% (160/4882) HBsAg positivity is obtained. In 14 (8.75%) of these 160 positive HBsAg serum sample total anti-delta antibodies are detected. Among these total 14 anti-delta antibody serums in only 2 (14.29%) of them HDV RNA positivity is detected. No any HDV-RNA is detected in negative total anti-delta samples. Therefore, the HDV-RNA positivity in all positive HBsAg donors is determined to be 1.25% (2/160). **Conclusions:** Since having high HBV infection prevalence in our region, it is important to explore HDV infection in blood donors who are determined as having positive HBsAg. Determination of anti-delta antibodies in serum samples using serological methods might be enough for a reliable diagnosis. However, the real-time PCR method, which is very sensitive and convenient method, can be used to detect HDV-RNA in serum samples.

Key Words: Blood donors; hepatitis B surface antigens; hepatitis delta virus; diagnosis

Kan transfüzyonu sırasında çoğu viral olmak üzere çeşitli enfeksiyon etkenlerinin alıcıya bulaşması en sık karşılaşılan komplikasyonlardır. Günümüzde kan transfüzyonunun güvenilirliği donörlerin taranması sonucu enfekte kan ürünlerinden kaçınılmasına bağlıdır. Hepatit göstergeleri hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), anti-hepatit C virüsü (HCV), donörlerden bakılan en önemli laboratuvar testleridir. HBsAg taşıyıcılığının tehlikeli yönlerinden biri hepatit delta virüsü (HDV) enfeksiyon riskinin yüksek olmasıdır.^{1,2}

HDV defektif bir RNA virüsü olup, replikasyon için hepatit B virüsü (HBV)'ne gereksinim duymaktadır. Bu nedenle HDV ancak HBV ile enfekte bireyler arasında bulaş gösterebilir.^{3,4} HBV enfeksiyonlarından korunmaya yönelik aşılama ve kan donörlerinin taranması gibi önlemler, HBV ile birlikte HDV enfeksiyonu sıklığında belirgin azalma sağlamıştır. Ancak ülkemizde özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde olmak üzere ciddi oranlarda HDV seropozitifliği görülmektedir. Ülke genelinde kronik hepatitlerde %20, karaciğer sirozlu hastalarda %32.5 oranında anti-delta antikor pozitifliği vardır. Bu oranlar Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde %30-50'lere kadar çıkmaktadır.⁵

Serum anti-delta antikorlarının saptanması gibi geleneksel yöntemler HDV enfeksiyonu tanısı için yeterlidir. Bununla birlikte bu teknikler, HDV enfeksiyonunu daha doğru olarak tanımlamak ve tedavinin etkinliğini belirlemek için gerekli duyarlılık ve özgüllükten yoksundur. Son zamanlarda HDV-RNA hibridizasyon ve real time-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gibi geliştirilen moleküler teknikler doğru tanı konulmasında artış sağlamıştır. Moleküler yöntemlerle HDV-RNA varlığının araştırılması uygulanan tedavinin etkinliğini belirleme açısından da en güvenilir kontrol tekniği olarak değerlendirilmiştir.⁶

Bu çalışmada, bölgemizde hala ciddi bir sağlık problemi olmaya devam eden HDV enfeksiyonunun, HBsAg pozitifliği saptanan gönüllü kan donörlerinde serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Kan Merkezine Ocak 2007-Şubat 2007 tarihleri arasında başvuran toplam 4882 gönüllü kan donörü HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1-2 ve nontreponemal sifiliz antikorları açısından rutin olarak tarandı. HBsAg, anti-HCV, anti-HIV 1-2 testleri mikropartikül enzim immünoassay (MPEIA, Axym, ABBOTT, Almanya) yöntemiyle incelendi. Sifiliz için RPR (Rapid Plasma Reagin, BioSystem S.A. İspanya) aglutinasyon testi yapıldı. Bu testlerin tamamı kan merkezinde çalışıldı. Ancak anti-HIV pozitif bulunan serumların Western Blot (WB) doğrulama testi Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezinde (RSHM) yapılmıştır. HBsAg pozitif 160 serum örneğinde, total anti-delta antikor EIA (ABBOTT Murex, 65205 Wiesbaden, Almanya) ve HDV-RNA real-time RT-PCR (ABI-PRISM/ 7700 Sequence Detector, AJ Roboscreen GmbH, Almanya) yöntemleri kullanılarak araştırıldı. Anti-delta pozitif serum örnekleri HBeAg, anti-HBe, anti-HBeIgM ve anti-HBeIgG açısından EIA (Modular Analytics E 170, Roche, Almanya) yöntemi kullanılarak incelendi. Tüm örneklerde alanin amino-transferaz (ALT) analizi için Abbott® aeroset otoanalizator kullanıldı.

BULGULAR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Bankasında 2007 yılının Ocak ve Şubat aylarında 4882 gönüllü kan donörü taranmıştır. Taramalar sonucunda 160 (%3.28) donörde HBsAg, 37 (%0.76) donörde anti-HCV, 8 (%0.16) donörde "venereal disease research laboratory (VDRL)" pozitif olarak saptanmıştır. Anti-HIV 1-2 pozitifliği, 7 (%0.14) donörde saptan-

TABLO 1: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Bankası kan donörleri tarama sonuçları.

	2007 Ocak-Şubat (n)*	
	Sayı	%
HBsAg	160	3.28
Anti-HCV	37	0.76
Anti-HIV 1/2**	7	0.14
VDRL	8	0.16

*n= 4882

**RSHM'den WB test sonuçları negatif olarak bildirilmiştir.

miş olup, bu serum örneklerinin RSHM'den doğrulama amacıyla yapılan WB test sonuçları negatif olarak bildirilmiştir (Tablo 1).

HBsAg pozitif 160 serum örneğinin 14 (%8.75)'ünde total anti-delta antikorları pozitif bulunmuştur. Total anti-delta antikorları pozitif örneklerin tümünde anti-HBe ve anti-HBc IgG antikorları pozitif olarak belirlenmiştir. Total anti-delta antikorları pozitif bulunan 14 örneğin sadece 2 (%14.29)'sinde HDV-RNA pozitifliği tespit edilmiştir. Total anti-delta antikorları negatif örneklerin ise hiçbirinde HDV-RNA saptanmamıştır. Böylece tüm HBsAg pozitif donörler arasında HDV-RNA pozitifliğinin %1.25 (2/160) olduğu belirlenmiştir. HBsAg pozitif bireylerdeki HDV göstergeleri Tablo 2'de görülmektedir. Bu çalışmada, HBsAg pozitif bireylerin ALT düzeyleri normal sınırlar arasında tespit edilmiştir (10-35 U/L).

TARTIŞMA

Transfüzyon ile virüsler başta olmak üzere bakteriler, parazitler, riketsiyalar ve funguslar bulaşabilmektedir. Transfüzyon tıbbının temel hedefi, bulaş riskini minimuma indirgeyerek transfüzyon güvenliğini sağlamaktır. Donör sorgulama ve mikrobiyolojik tarama testleri bu hedefe ulaşmak için kullanılan iki önemli yoldur. Ülkemizde 2857 sayılı Kan ve Kan Ürünleri Kanunu ve ilgili yönetmeliklerinde, kan donörlerinde çalışılması zorunlu enfeksiyöz tarama testleri, HBsAg, anti-HCV, anti-HIV ve VDRL olarak belirtilmiştir.^{1,2}

Çalışmamızda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Bankasına başvuran gönüllü donörlerin HBV, HCV, HIV ve sifiliz için yapılan tarama test sonuçları sırasıyla %3.28, %0.76, %0 ve %0.16 olarak bulunmuştur. Ülkemizde kan donörlerinde yapılan çalışmalarda değişik oranlar elde edilmiştir.

TABLO 2: HBsAg pozitif donörlerde HDV enfeksiyon göstergelerinin dağılımları.*

	Sayı	%
Anti - Delta (pozitif)	14/160	8.75
HDV-RNA (pozitif)	2/160	1.25
HDV-RNA (pozitif)**	2/14	14.29

*n= 160

**Anti-Delta pozitif 14 vakadaki oran

Bu oranlar, Mutlu ve ark. tarafından %2.30, %0.37, %0, %0.02, Gül ve ark. tarafından %1.26, %0.24, %0, %0 olarak bulunmuştur.⁷ Dilek ve ark. kan donörlerindeki HBV, HCV, HIV ve sifiliz oranlarını sırasıyla %2.55, %0.17, %0.036, %0.057 olarak bildirirken, Aydın ve ark. ise %3.94, %0.74, %0 ve %0.47 oranlarını elde etmişlerdir.^{9,10} Değişik çalışmalardan elde edilen farklı sonuçların nedeni; testlerin farklı laboratuvar çalışma koşullarında yapılmasına ve duyarlılıkları değişebilen farklı sistemlerin kullanılmasına bağlı olabilir.¹¹ Ayrıca çalışmaların farklı bölgelerde yapılmış olması da farklı sonuçlara neden olabilir.⁹

Viral etkenlerden HDV'nin bulaşması yardımcı virüsü olan HBV gibi parenteraldir. Kan ve kan ürünleriyle geçiş olabilir.¹² HBV'nin birlikteliğine zorunlu ihtiyaç göstermesi nedeni ile donörlerde HBsAg'nin taranması aynı zamanda HDV'nin bulaşmasını da engellemektedir. Ancak HBsAg testlerinin duyarlılığındaki problemler HDV'nin bulaşması için de risk oluşturabilir. Yine çok sayıda kan ve kan ürünleri transfüzyonu HDV bulaşmasında riski artıran önemli faktörlerden biridir.¹³

HDV enfeksiyonu özellikle Balkan ülkeleri, eski Sovyet Cumhuriyetleri ve Türkiye olmak üzere tüm dünyada önemli bir halk sağlığı problemi olmayı sürdürmektedir.¹⁴ HDV, replikasyon için HBV'ye gereksinim duyan defektif bir RNA virüsüdür. HDV hem akut hem de kronik hepatite neden olurken, oluşturduğu klinik tablolar diğer virüslere kıyasla daha ağırdır. HDV enfeksiyonlarında fulminan seyir ve kronikleşme sık görülmektedir.¹⁵ Biz de, bölgemizde hala yaygın ve ciddi bir sağlık problemi olması nedeni ile HBsAg pozitifliği saptanan gönüllü kan donörlerinde HDV varlığını serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada, HBsAg pozitif donörlerde total anti-delta antikor pozitifliği %8.75 oranında saptanmıştır. Aynı laboratuvar da yapılan başka bir çalışmada anti-delta pozitifliği; asemptomatik HBsAg taşıyıcılarında %6 olarak bulunmuştur.¹⁶ Van bölgesinde yapılan bir çalışmada, asemptomatik HBsAg taşıyıcıları total anti-delta pozitifliği EIA (Guliana Diagnostica S.r.I., İtalya) yöntemiyle %5 olarak saptanmıştır.¹⁷ İnoue ve ark. Moğolistan'da

sağlıklı bireyler arasında EIA yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada %16.9 oranında anti-delta antikor pozitifliği saptamışlardır.¹⁸ Arakawa ve ark. karaciğer fonksiyon testleri normal olan olguların serum örneklerinde EIA (Abott, Matsudo, Japonya) yöntemi ile %8.5 oranında anti-delta antikor pozitifliği bulmuşlardır.¹⁹ Çalışmamızda ALT düzeyleri normal sınırlar arasında (10-35 U/L) tespit edilen HBsAg pozitif kan donörlerindeki total anti-delta pozitiflik oranı (%8.75), inaktif HBsAg taşıyıcılarından elde edilen bulgularla uyumlu bulunmuştur.

HDV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında serolojik ve virolojik tekniklerden yararlanır. Klasik olarak en yaygın kullanılan gösterge, total anti-delta antikorudur; EIA ile araştırılan bu antikorun varlığı, etken ile temasın göstergesidir ve özellikle seroepidemiolojik çalışmalarda belirli bir grupta HDV ile temas sıklığının araştırılması amacıyla kullanılır. Akut ve kronik enfeksiyonların ayrımında hepatit delta antijeni (HDAg) ve anti-delta IgM araştırılması önerilmiştir. Anti-delta IgM HDV'ye bağlı karaciğer hasarının bir göstergesidir. Ancak etkenin alınmasından bir ay sonra anti-delta IgM kaybolur ve anti-delta IgG antikorları ortaya çıkar. Anti-delta IgG düşük titrelerde 6 ay pozitifliğini sürdürür. Anti-delta IgM antikorlarının kaybolması rezolüsyonu, persistansı ise kronikleşmeye gidişi gösterir. Kronikleşme oranı yüksek olan koenfeksiyonun tanımlanmasında "anti-HBcIgM", kullanılan diğer bir göstergedir.²⁰ Çalışmamızda total anti-delta pozitif olguların hiçbirinde anti-HBc IgM saptanmamıştır.

Delta antijeni ve anti-delta IgM'lerin kısa süreli pozitiflik göstermeleri; ayrıca her yeni olguda rastlanılmama olasılığı, HDV enfeksiyonlarının tanısında moleküler yöntemlerle HDV-RNA varlığını araştırmanın önemini gündeme getirmiştir. Ayrıca viral nükleik asit araştırması, uygulanan tedavinin etkinliğini belirleme açısından da en güvenilir kontrol tekniği olarak değerlendirilmiştir. Bu arada HDV-RNA'nın kantitatif araştırılması tedavinin izlenmesinde daha uygun olduğu ve miktar tayini yapılarak daha doğru yorumlara erişilebileceği vurgulanmıştır.²⁰

Çalışmamızda gönüllü kan donörleri arasında HBsAg ve total anti-delta antikorları pozitif olan bireylerin serumlarında %14.29 oranında HDV-RNA pozitifliği saptadık. Ayrıca, çalışmamızda HDV-RNA pozitifliği saptanan olguların tüm HBsAg pozitif donörlerin %1.25'ini oluşturduğunu gösterdik.

Anti-delta antikorları pozitif asemptomatik gruplarda yapılan yurt dışı çalışmalarında %47.6, %40.6, %48.8 oranlarında HDV-RNA pozitifliği saptanmıştır.^{18,19,21} HDV-RNA ile anti-delta antikorları arasındaki uyumun yurt dışı çalışmalarda bizim çalışmamızdan daha yüksek oranlarda olduğu gözlenmiştir. Ancak çalışmamızın sonucu, bölgemizde daha önce anti-delta antikorları pozitif serumlarda yapılan başka bir çalışmadan elde edilen %12.4'lük HDV-RNA pozitifliği ile paralellik göstermektedir.²²

Çalışmamıza benzer şekilde kan donörleri arasında yapılan çalışmalarda da birbirlerinden çok uzak olmayan sonuçlar elde edilmiştir. Moğolistan'da kan donörleri arasında %6.7 oranında HDV-RNA saptanmıştır.²³ Doğanay ve ark., kan donörleri arasında %2.7 oranında anti-delta pozitifliği bulmuşlardır.²⁴

Sonuç olarak bölgemizde HBV enfeksiyon prevalansının yüksek olması nedeni ile HBsAg pozitif saptanan gönüllü kan donörlerinin aynı zamanda HDV enfeksiyonu yönünden de araştırılması uygun olacaktır. Bu taramanın, HDV enfeksiyonu yönünden endemik olan bölgemizde sağlayacağı katkının önemi büyüktür. Böylece HDV ile enfekte olguların daha erken tanınması sağlanabilir. Bu olgularda serum örneklerinde serolojik yöntemler kullanılarak anti-delta antikorunun saptanması güvenli bir tanı için yeterli olabilir. Ancak gerçek viremiyi, oldukça duyarlı bir yöntem olan RT-PCR'yi kullanarak serumda HDV-RNA'nın saptanmasıyla göstermek mümkündür. Gönüllü kan donörlerinde saptanan HBsAg taşıyıcılığıyla birlikte olabilecek HDV enfeksiyonlarına doğru tanı konulması ve viral replikasyonun gösterilmesi, bulaşın önlenmesi ile birlikte antiviral tedavinin başlanmasını ve izlenmesini, böylece HDV'ye bağlı gelişebilecek karaciğer hasarının önlenmesini sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Avcı İY, Turhan V, Çınar E. [Transfusion-transmitted infectious diseases.]. *Türkiye Klinikleri J Med* 2000; 20(5):317-24.
2. Heper Y. [Microbiological scanning tests in transfusion]. *ANKEM Derg* 2007;21(2):146-52.
3. Farci P, Chessa L, Balestrieri C, Serra G, Lai ME. Treatment of chronic hepatitis D. *J Viral Hepat* 2007;14 Suppl 1:58-63.
4. Şengezer T, Bozdayı M. [Molecular biology of hepatitis delta virus]. *Gastroenterohepatol* 2001;12(2):2.
5. Değertekin H. [Epidemiology of hepatitis delta virus infection in turkey and in the world]. Değertekin H, Yalçın K, eds. *Dünyada ve Türkiye'de Hepatit Delta Virus Enfeksiyonunun Epidemiyolojisi*. 1st ed. Diyarbakır: Türkiye Karaciğer Araştırmaları Derneği; 2005. p.36-44.
6. Modahl LE, Lai MM. Hepatitis delta virus: the molecular basis of laboratory diagnosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000;37(1):45-92.
7. Mutlu B, Meriç M, Willke A. [Seroprevalence of hepatitis B and C virus, human immunodeficiency virus and syphilis in the blood donors.]. *Mikrobiol Bul* 2004;38(4):445-8.
8. Gül M, Çıragil P, Aral M, Doğramacı N. [The evaluation of HBV, HCV, HIV and syphilis screening test results in voluntary and nonvoluntary blood donors]. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2006;36(1):35-9.
9. Dilek I, Demir C, Bay A, Akdeniz H, Öner AF. [Seropositivity rates of HBsAg, anti-HCV, anti-HIV and VDRL in blood donors in Eastern Turkey]. *Turk J Hematol* 2007; 24(1): 4-7.
10. Aydın F, Çubukçu K, Yetişkul S, Yazıcı Y, Kaklıkkaya N. [Retrospective evaluation of HBsAg, anti-HCV, anti-HIV and syphilis reagent antibody seropositivity in blood donors at the Trabzon Farabi Hospital]. *Mikrobiol Bul* 2002;36(1):85-90.
11. Temiz H, Nergiz Ş, Özbek E, Gedik M, Meşe S, Gül K. [Evaluation of bloods taking from the blood donors who are applied to blood centers of Dicle University with respect To HBsAg, anti-HCV, anti-HIV and syphilis]. *Viral Hepatit Derg* 2004;9(3):166-9.
12. Tekeli E, Balık İ. [Delta hepatitis]. *J Med Res* 1988;6(1):9-17.
13. Ponzetto A, Forzani B, Parravicini PP, Hele C, Zanetti A, Rizzetto M. Epidemiology of hepatitis delta virus (HDV) infection. *Eur J Epidemiol* 1985;1(4):257-63.
14. Yurdaydin C. Delta hepatitis in Turkey: decreasing but not vanishing and still of concern. *Turk J Gastroenterol* 2006;17(1):74-5.
15. Bilgiç A, Özacar T. [Hepatitis B and D viruses.] Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. p.878-80.
16. Celen MK, Ayaz C, Hosoglu S, Geyik MF, Ulug M. Anti-hepatitis delta virus seroprevalence and risk factors in patients with hepatitis B in Southeast Turkey. *Saudi Med J* 2006;27(5):617-20.
17. Türkoğan MK, Bozkurt H, Uygan I, Tuncer I, İrmak H, Buzgan T, et al. Chronic hepatitis delta virus infection in Van region of eastern Turkey. *Turk J Gastroenterol* 2005;16(1):17-20.
18. Inoue J, Takahashi M, Nishizawa T, Narantuya L, Sakuma M, Kagawa Y, et al. High prevalence of hepatitis delta virus infection detectable by enzyme immunoassay among apparently healthy individuals in Mongolia. *J Med Virol* 2005;76(3):333-40.
19. Arakawa Y, Moriyama M, Taira M, Hayashi N, Tanaka N, Okubo H, et al. Molecular analysis of hepatitis D virus infection in Miyako Island, a small Japanese island. *J Viral Hepat* 2000; 7(5):375-81.
20. Oymak S, Badur S. [Hepatitis delta virus: virological diagnosis methods and molecular properties]. Değertekin H, Yalçın K, eds. *Hepatit Delta Virüsü: Viroloji, tanı yöntemleri ve moleküler özellikleri*. 1st ed. Diyarbakır: Türkiye Karaciğer Araştırmaları Derneği; 2005. p.1-10.
21. Sakugawa H, Nakasone H, Kawakami Y, Adaniya H, Mizushima T, Nakayoshi T, et al. Determination of hepatitis delta virus (HDV)-RNA in asymptomatic cases of HDV infection. *Am J Gastroenterol* 1997;92(12):2232-6.
22. Ozekinci T, Atmaca S, Akpolat N, Temiz H, Arıkan E. [Short communication: evaluation of the correlation between hepatitis D virus (HDV) RNA positivity and HDV antibodies]. *Mikrobiyol Bul* 2005;39(3):345-9.
23. Tsatsalt-Od B, Takahashi M, Nishizawa T, Inoue J, Ulaankhuu D, Okamoto H. High prevalence of hepatitis B, C and delta virus infections among blood donors in Mongolia. *Arch Virol* 2005;150(12):2513-28.
24. Doğanay M, Patiroğlu T, Utaş C, Ozbakir O, Unal A, Utaş S, et al. [Comparison of HBsAg, anti-HCV and anti-HDV positivity in diverse groups]. *Mikrobiyol Bul* 1993;27(2):107-12.