Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Hepatit C Virüsü Genotipleri

HEPATITIS C VIRUS GENOTYPES IN THE SOUTHEAST REGION OF TURKEY

Dr. Timuçin ÇİL,[a] Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ,[b] Dr. Vedat GÖRAL,[c] Dr. Abdullah ALTINTAŞ[d]

[a]Tıbbi Onkoloji BD, [b]Mikrobiyoloji ABD, [c]Gastroenteroloji BD, [d]Hematoloji BD, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, DİYARBAKIR

Özet

Amaç: Tüm dünyada 6 majör hepatit C virüs (HCV) genotipi (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5, 6) tespit edilmiştir. Çalışmamızın amacı; Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki, anti-HCV ve HCV RNA'sı pozitif hastaların HCV genotipinin saptanmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmaya anti-HCV ve HCV RNA'sı pozitif 30 hasta dahil edildi. Çalışmaya alınan hastalardan 8'nin HCV genotiplendirmesi, serum örneklerinin alınması, transferi, saklama işlemleri ve PCR incelemesi sırasındaki ayrıştırma işlemlerindeki hatalara bağlı olarak yapılamadı.

Bulgular: Hastalarda genotip 1a, 1b ve 3a olmak üzere 3 farklı HCV genotipi saptandı. Beş hastada (%22.7) genotip 1a, 16 hastada (%72.8) genotip 1b ve 1 hastada ise (%4.5) genotip 3a tespit edildi.

Sonuç: Çalışmamızda Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde, daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak baskın genotip 1b saptanmış, ancak zamanla diğer genotiplerin de ortaya çıktığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anti-HCV; genotip; HCV RNA

Abstract

Objective: Six major HCV genotypes (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5, 6) have been shown worldwide so far. In this study we determined the genotypes of HCV RNA in anti-HCV and HCV RNA positive patients.

Material and Methods: Thirty patients were enrolled in this study. Eight patients' genotypes could not be determined, because of defect of transporting, storing or PCR analysis.

Results: All of the patients had 3 type genotypes; genotype 1a, 1b and 3a. Five patients showed genotype 1a (22.7%) pattern, 16 patients showed genotype 1b (72.8%) pattern and 1 patient showed genotype 3a (4.5%) pattern.

Conclusion: Genotype 1b was found to be dominant in the southeast region of Turkey. Our results were similar with others performed in this area. In addition, dominant HCV genotype was 1b; however, the other genotypes have been increasingly determined.

Key Words: Hepatitis C antibodies; genotype; hepatitis C virus

Turkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:496-500

HCV, esas olarak karaciğeri etkileyen sistemik bir enfeksiyondur. Asemptomatik formdan, fulminan karaciğer yetmezliğine kadar değişen farklı klinik tablolara neden olmaktadır. Ülkemizde kronik hepatite neden olan viral etkenler içinde hepatit B virüsünden sonra 2. sırada yer almaktadır.[1]

Tüm dünyada yaygın olarak görülen HCV enfeksiyonu kıtalar ve ülkeler arasında veya aynı ülkede bölgeler arasında farklılık göstermekledir. Sağlıklı kişiler veya kan donörleri arasında yapılan çalışmalarda %0.01-6 arasında değişen seropozitiflik oranı bildirilmektedir.[2,3]

HCV ile yapılan sekans çalışmaları sonucunda dünyada 6 majör HCV genotipi belirlenmiştir. Bu 6 genotipten 1a,1b, 2a, 2b ve 3a tipleri tüm dünyada yaygın olarak görülürken, tip 4, 5, 6 sadece bazı bölgelerde görülmektedir.[4-6] Türkiye'de yapılan çalışmalarda, dünya geneliyle benzer olarak baskın HCV genotipinin 1b olduğu gösterilmiştir.[7,8]

HCV enfeksiyonu tanısı için, farklı yöntemler uygulanmaktadır. Virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerine karşı oluşan anti-HCV antikorları saptanabilmektedir. Ancak virüs genomunun mutasyonlarla değişiklik göstermesi nedeniyle antikorun mevcudiyeti koruyuculuğu göstermemektedir.[5,9] Her zaman viral antijenlerin saptanamaması nedeniyle, bazı olgularda genetik materyalin

Geliş Tarihi/*Received:* 10.08.2006 **Kabul Tarihi/*Accepted:*** 13.03.2007

Yazışma Adresi/*Correspondence:* Dr. Timuçin ÇİL
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Onkoloji BD, DİYARBAKIR
timcil2@hotmail.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

(RNA) gösterilmesi ile tanı konmaktadır.[10-12] HCV RNA'nın gösterilmesi, genotipin belirlenmesi ile HCV'nin neden olduğu enfeksiyonun tedavisi, tedaviye yanıtı ve hastalığın prognozu belirlenebilmektedir. Farklı genotipler ve karaciğer hastalığının prognozu arasında ilişki tam olarak belirlenmemiştir fakat bununla birlikte bazı genotiplerle antiviral tedaviye cevap arasında ilişki olduğu ortaya konmuştur.[7,12,13] Çalışmamızın amacı Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde, anti-HCV ve HCV RNA'sı pozitif saptanabilen hastaların HCV genotipinin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntemler

Ocak 2004 ile Ocak 2005 tarihleri arasında Gastroenteroloji ve Nefroloji polikliniklerine başvuran, anti-HCV ve HCV RNA'ları pozitif 30 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan olguların eşlik eden hastalıkları, cinsiyetleri, yaşları, ALT ve AST düzeyleri kaydedildi. Periferik venöz kan örneklerinden elde edilen serumlar, dondurulup çözdürme işleminin sonuçları olumsuz etkilemesini engellemek için PCR analizleri yapılana kadar -20°C'de saklandı. HBsAg, Anti-HBs, Anti-HCV "mikropartikül enzimimmünoassay" (Abbot Laboratories) yöntemi ile belirlendi.

HCV-RNA'nın PCR ile Saptanması

Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması ve Saklama Koşulları:

50 ekstraksiyonluk kit içeren yıkama tamponu R1: 20 mL'lik %98.8'lik etanol ilave edildi veya 250 ekstraksiyonluk kit içeren yıkama tamponu R1: 80 mL %99.8'lik etanol ilave edilip, şişenin üzeri işaretlenerek sıkı şekilde kapalı olarak oda sıcaklığında saklandı. PCR ile sekans çalışması öncesinde; örneklerin parçalanması, RNA'nın filtrelere bağlanması, spin filtrelerin 1. ve 2. yıkama işlemleri, spin filtrelerden ethanolün uzaklaştırılması ve RNA'nın filtrelerden saklama tüplerine toplanması işlemlerinden sonra HCV genotiplendirme sekans çalışma protokolü işlemine geçildi.

HCV Genotiplendirme Sekans Çalışma Protokolü

cDNA'nın elde edilmesi: TaqMan RT Tampon, MgCl2, dNTPs, p11, RNAaz inhibitörü ve distile su kullanılarak hazırlanan karışım 25°C'de 10 dk., 48°C'de 60 dk. ve 4°C'de bekletilerek cDNA belirlendi. Birinci PCR protokolü: 10X Tampon, MgCl2, dNTP, P11, P13, Taq Polimeraz, distile su karışımı 94°C'de 5 dk., 52°C'de 1 dk., 72°C'de 2 dk. bekletildikten sonra 1/400 oranında dilüe RNA elde edilmiş oldu. İkinci PCR protokolü: 10X tamponu, MgCl2, dNTP, P12, P14, Taq Polimeraz ve distile su ve 1/400 oranında dilüe RNA eklenerek 94°C'de 5 dk., 52°C'de 1 dk., 72°C'de 2 dk., 4°C'de bekletilerek ikinci PCR protokolü tamamlanmış oldu. Sekans analizleri ABI 310 Genetik Analizer cihazında yapıldı.

Çalışmanın istatistiksel analizi için SPSS 11.0 bilgisayar programı ile Student's t test ve Ki-kare testleri kullanıldı.

Bulgular

Çalışmaya 30 hasta alındı, ancak HCV genotiplendirmesi sırasında 8 hastanın genotipi belirlenemediği için, 8 hasta çalışmadan çıkarılmak zorunda kalındı. Genotiplendirilmesi yapılabilen 22 hastanın, 12 (%54.5)'si kadın, 10 (%45.5)'u erkek idi. Hastaların yaşları 26-58 (ortalama 42.4), kadın hastaların yaşları 26-53 (ortalama 40.5) ve erkek hastaların yaşları 29-58 (ortalama 44.6) olarak saptandı. Hastaların, ortalama ALT düzeyleri 42-149 IU/L (ortalama 77.04 IU/L), AST düzeyleri 34-132 IU/L (60.1 IU/L) olarak saptandı. Kadın hastalarda ortalama ALT düzeyi 79 IU/L, erkek hastalarda ise ALT düzeyi 74.7 IU/L olarak bulundu. Kadın hastalarda AST düzeyi ortalama 62.08 IU/L, erkek hastalarda ise AST düzeyi ise 52.8 IU/L saptandı.

Olguların 3 (%13.6)'ünde kronik HCV enfeksiyonu öyküsü, 6 (%27)'sında karaciğer sirozu ve 13 (%59)'ünde kronik böbrek yetersizliği mevcuttu. Olguların sekans analizinde 3 farklı HCV genotipi belirlendi; genotip 1a, 1b ve genotip 3a. 5 hastada (%22.7) genotip 1a, 16 hastada (%72.8) genotip 1b ve 1 hastada (%4.5) genotip 3a saptandı. Kadınlar içinde genotip 1a'ya sahip olanların sayısı 3 (%25), genotip 1b'ye sahip hastaların sayısı 8 (%66.7), genotip 3a'ya sahip hastaların sayısı ise 1 (%8.3) olarak bulundu. Erkekler içinde genotip 1a'ya sahip hastaların sayısı 2 (%20), genotip 1b hastaların sayısı ise 8 (%80) saptandı.

Tablo 1. Olguların demografik özellikleri, tanıları ile ALT, AST düzeyleri ve genotipleri.

Genotip **Hasta sayısı**	**1a** **n= 5**	**1b** **n= 16**	**3a** **n= 1**	***p**
Yaş	41.0 ± 11.0	43.4 ± 9.2	33	AD
Cins (K/E)	3/2	8/8	1/0	AD
AST (IU/L)	71 ± 25	52 ± 13	132	0.03
ALT (IU/L)	87 ± 38	69 ± 24	149	AD
Tanı				
Kronik böbrek yetmezliği	3	9		
Kronik hepatit	1	2		
Karaciğer sirozu	1	5	1	

p< 0.05 anlamlı AD: İstatistiksel olarak anlamlı değil,
*: p değerleri 1a, 1b genotipleri arasında hesaplandı.

Genotip 1a'ya sahip hastalar arasında ortalama ALT düzeyi 87.8 UI/L, AST düzeyi ise 71.2 IU/L'idi. Genotip 1b'ye sahip hastalar arasında ortalama ALT düzeyi 69.2 IU/L, AST düzeyi 52.2 IU/L'idi. Genotip 3a'ya sahip hastada ise ALT düzeyi 149 IU/L, AST düzeyi ise 132 IU/L saptandı (Tablo 1).

Tartışma

HCV ilk kez 1989 yılında Choo ve ark. tarafından klonlanmıştır. Yeni tekniklerle yapılan çalışmaların sonucuna göre, HCV enfeksiyonunun bütün dünyada yaygın olduğu ve birçok karaciğer hastalığının etiyolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir.[1,13,14] Genel olarak tüm kronik hepatit C hastalarının %25'inde siroz gelişmesi nedeniyle, tüm dünyada HCV çok önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir.[15]

HCV enfeksiyonu genellikle akut dönemde asemptomatik klinik tablo gösterir. Çoğu olgu kronik dönemde tanı almaktadır. Kullanılmakta olan serolojik testler HCV'nin nükleik asit dizilimlerine dayanılarak hazırlanan, rekombinant antijenlere karşı oluşan antikorları saptamaya yönelik testlerdir.[10] Kronik renal yetmezlik veya immün yetmezliği olan hastaların serumlarında anti-HCV saptanamayabilir. Bu hasta gruplarında, kronik karaciğer hastalığı bulguları olan veya ALT ve AST seviyeleri sürekli yüksek seyreden hastalarda anti-HCV negatif saptansa bile HCV RNA bakılarak, HCV enfeksiyonunun mutlaka ekarte edilmesi gerekir. HCV RNA'nın serumda gösterilmesi, kronik HCV enfeksiyonun erken tanınması ve tedavi edilmesi açısından çok önemlidir. Bizim çalışmamızdaki tüm hastaların anti-HCV ve HCV RNA'ları pozitif saptanırken, ALT ve AST düzeyleri normalden yüksekti.

Hastalarımızdaki AST yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu. HCV enfeksiyonu sırasında, AST ve ALT düzeylerinin 3 farklı seyir gösterebilmektedir; sürekli olarak normal sınırların üzerinde değerler saptanabileceği gibi, zaman zaman yüksek değerlerin görüldüğü veya enzim değerlerinin tamamen normal olduğu olgularla da karşılaşılabilir. HCV'ye bağlı kronik hepatit olgularında, ALT ve AST seviyeleri ile karaciğer histolojisinin her zaman korelasyon göstermediği bilinmektedir. ALT ve AST değerleri normal veya yüksek olan aktif hepatit olgularıyla karşılaşılabilmektedir. Bununla birlikte bazı karaciğer sirozu olgularında 3 katından yüksek ALT ve AST değerleri saptanmaktadır.[16] ALT ve AST düzeylerindeki farklı seyirler nedeniyle bütün kronik hepatit C olgularında karaciğer harabiyetini gösterebilmek için enzim değerlerini çok fazla dikkate almadan karaciğer biyopsisi yapılması gerekliliği doğmuştur. HCV, kronik karaciğer parenkimal hastalıklarında önemi gitikçe artan etiyolojik bir ajan olmasından dolayı, özellikle son yıllarda HCV'nin biyolojisi ve genomik yapısı üzerindeki çalışmalarda artış olmuştur. Yıllar içinde yapılan çalışmalarla HCV'nin genomik yapısında, değişik derecelerde sekans

farklılığı saptanmıştır. Nükleik asit yapısındaki bu farklılıklar nedeniyle HCV'de 6 farklı genotip belirlenmiştir. Genotipler arasında %31- 34 oranında genom farklılığı bulunmaktadır, daha az oranda olan farklılıklar ise subtipler olarak belirlenmiştir. 50'den fazla subtip belirlenmiş olup bunların genomik benzerliği %77-80'dir. Subtipler içinde ise; küçük oranda %1-9 intragenomik farklılığın olduğu türümsüler görülebilir.[17,18]

Bu çalışmaya anti-HCV ve HCV RNA'sı pozitif toplam 30 hasta alındı. Ancak hastaların 22'sinde HCV genotiplendirmesi yapılabildi. 8 hastanın genotiplendirmesinin yapılamaması; serum örneklerinin alınması, transferi, saklama işlemleri ve PCR incelemesi sırasındaki ayrıştırma işlemlerindeki hatalara bağlı olabileceği düşünüldü.

Dünya genelinde genotip dağılımlarında farklılıklar görülebilmektedir. Amerika'daki sonuçlar ile Japonya, Avrupa ve Orta Doğu ülkelerinde belirgin şekilde farklılık görülmektedir.[8,19,20] Son yıllarda Avrupa kaynaklı çalışmalarda genotip 1b, 2a ve 2c'de azalma saptanırken, genotip 1a, 3a ve 4a'da artış saptanmıştır. Avrupa'da özellikle intravenöz ilaç kullanım alışkanlığı olanlarda baskın tip 4a'dır.[21,22]

Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda genellikle baskın olan tipin 1b olduğu tespit edilmiştir. Uzunalimoğlu ve ark.nın 365 kronik HCV hastasını içeren çok merkezli çalışmasında, genotip 1b %84, genotip 1a %11, genotip 2 %3, genotip 3 %1 ve genotip 4 %1 oranında bulunmuştur. Aynı çalışma içerisindeki hemodiyaliz hastalarında da baskın genotip 1b %78 olarak saptanmıştır.[23] Ülkemizde bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da, benzer sonuçlar bulunmuştur. Örneğin Abacıoğlu ve ark.nın İzmir bölgesinde genotip 1b %75.8, genotip 1a %19.1 genotip 2 %3.4 ve genotip 4 %2.2 bulmuşlardır.[24] Bu çalışmadaki hasta grupları bizim çalışmamıza benzer şekilde ağırlıklı olarak kronik renal yetersizliği olan olguları içermektedir.

1997 yılında Yalçın ve ark.nın Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yaptığı araştırmada, anti-HCV ve HCV RNA'sı pozitif olan 28 hastanın genotip incelemesinde tüm hastalarda genotip 1b saptanmıştır.[25]

Bizim çalışmamızda ise; anti-HCV ve HCV RNA'sı pozitif 22 hastamızın, 5 (%22.7)'inde genotip 1a, 16 (%72.7)'sında genotip 1b, sadece 1 hastada (%4.5) ise genotip 3a saptandı. Bizim çalışmamızda olduğu gibi diğer çalışmalarda yıllar içinde genotip 1b oranı azalmaktadır. Bizim çalışmamız ile bölgemizde 8 yıl önce yapılmış olan Yalçın ve ark.nın yapmış olduğu araştırmayı karşılaştırdığımızda; geçen yıllar içinde HCV genotipinde değişiklik olduğu görülmektedir.[25] Bizim bölgemizde Avrupa'daki çalışmalara benzer şekilde; genotip 1b'de azalma olurken genotip 1a ve genotip 3a'nın ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu genotip değişikliği ile ilerki yıllarda tedavi cevaplarınında daha iyi olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

HCV'nin genomik yapısı çok değişkendir. Genomik yapının kor bölgesinde çok az mutasyon olmasına karşın, diğer bölgelerde ise mutasyona çok fazla uğrayan genomik alanlar bulunmaktadır.[21] Zamanla genom üzerinde oluşan mutasyonlar ile genomik yapılar arasındaki farklar oluşmaktadır. Farklı genotiplerinde bu mutasyonlarla diğer genotiplerden oluştuğu düşünülmektedir.[26,27] Tüm bu mutasyonların bir araya gelerek yeni bir genotip oluşması için yıllar geçmesi ve genomik yapıda %31-34 oranında değişiklik gerekmektedir. Subtiplerin oluşumu ise genotipler içinde daha az oranda oluşan mutasyonlar gelişmesine bağlıdır.[11,12] Örneğin; genotip 1b'nin oluşması için 60-70 yıl, genotip 3a için 40 yıl, genotip 2c için ortalama 90-150 yıl kadar bir zaman süresinin gerekli olduğu tahmin edilmektedir.[18,28]

Sonuç olarak; bizim çalışmamız ile Kendal ve ark.nın araştırması karşılaştırıldığında Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde genotip 1b oranının zamanla azalarak başka genotiplerin ortaya çıktığı görülmektedir.[25] Genotiplerdeki bu değişiklik HCV'nin genomik yapısında oluşan mutasyonlara bağlı olabilir. Genotip 1b'nin tedaviye yanıtının kötü olması ve görülme oranının azalması, ileriki dönemde bölgemizdeki HCV enfeksiyonu tedavisinin çok daha başarılı olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Ancak Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki HCV

genotip prevelansının belirlenmesi ve genotip dağılımının saptanması için daha fazla olgu içeren çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Mıstık R, Balık İ. Türkiyede viral hepatitlerin epidemiyolojisi. Bir metaanaliz. Kılıçturgay K, editör. Viral Hepatit 98. 1. Baskı. Ankara: Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını; 1998.p.1-40.
2. Paver WK, Mortimer PP. An overview of the hepatitis viruses. Clin Microbiol Infect 1996;2:132-41.
3. Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, Mosley JW, Peterson DA, Taylor PE, et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. N Engl J Med 1991;325:1325-9.
4. Reed KE, Xu J, Rice CM. Phosphorylation of the hepatitis C virus NS5A protein in vitro and in vivo: Properties of the NS5A-associated kinase. J Virol 1997;71:7187-97.
5. McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follett EA, Seed C, Keller AJ, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: An international collaborative survey. J Clin Microbiol 1994;32:884-92.
6. Brechot C. Hepatitis C virus 1b, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Hepatology 1997;25:772-4.
7. Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:2451-5.
8. Sherlock S, Dooley J. Chronic HCV infection. Diseases Of The Liver And Biliary System. 9th ed. London: Blackwell Scientific Publications; 1993.p.357-69.
9. Tsubota A, Chayama K, Ikeda K, Yasuji A, Koida I, Saitoh S, et al. Factors predictive of response to interferon-alpha therapy in hepatitis C virus infection. Hepatology 1994;19:1088-94.
10. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, Bonino F, Bradley DW, Brechot C, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. Hepatology 1994;19:1321-4.
11. Pozzato G, Kaneko S, Moretti M, Croce LS, Franzin F, Unoura M, et al. Different genotypes of hepatitis C virus are associated with different severity of chronic liver disease. J Med Virol 1994;43:291-6.
12. Lindsay KL. Therapy of hepatitis C: Overview. Hepatology 1997;26(3 Suppl 1):S71-7.
13. Esin N. Nested ve non-Nested RT-PCR ile HCV-RNA' nın araştırılması. Gastroenteroloji 1998;14:75-8.
14. Kanto T, Hayashi N, Takehara T, Hagiwara H, Mita E, Naito M, et al. Buoyant density of hepatitis C virus recovered from infected hosts: Two different features in sucrose equilibrium density-gradient centrifugation related to degree of liver inflammation. Hepatology 1994;19:296-302.
15. Iwarson S, Norkrans G, Wejstal R. Hepatitis C: Natural history of a unique infection. Clin Infect Dis 1995;20:1 361-70.
16. Hoofnagle JH, di Bisceglie AM. The treatment of chronic viral hepatitis. N Engl J Med 1997;336:347-56.
17. Van Thiel DH, Colantoni A, De Maria N. Treatment of HCV positive individuals with normal serum ALT levels. Hepatogastroenterology 1998;45:321-4.
18. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. Hepatology 1995;21:570-83.
19. Zein NN, Rakela J, Krawitt EL, Reddy KR, Tominaga T, Persing DH. Hepatitis C virus genotypes in the United States: Epidemiology, pathogenicity, and response to interferon therapy. Collaborative Study Group. Ann Intern Med 1996;125:634-9.
20. Kurosaki M, Enomoto N, Murakami T, Sakuma I, Asahina Y, Yamamoto C, et al. Analysis of genotypes and amino acid residues 2209 to 2248 of the NS5A region of hepatitis C virus in relation to the response to interferon-beta therapy. Hepatology 1997;25:750-3.
21. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. N Engl J Med 1995;332:1463-6.
22. Kato N, Hijikata M, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Ohkoshi S, Sugimura T. Molecular cloning of the human hepatitis C virus genome from Japanese patients with non-A, non-B hepatitis. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:9524-8.
23. Bozdayi AM, Aslan N, Bozdayi G, Turkyilmaz AR, Sengezer T, Wend U, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B, C and D viruses in Turkish patients. Arch Virol 2004;149:2115-29.
24. Abacioglu YH, Davidson F, Tuncer S, Yap PL, Ustacelebi S, Yulug N, et al. The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients. J Viral Hepat 1995;2:297-301.
25. Yalçın K, Değertekin H, Akkız H. HCV genotypes in HCV related chronic hepatitis in Southeast Anatolia. Turk J Gastroenterol 1999;10:249-52.
26. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. N Engl J Med 1975;292:767-70.
27. Schiff ER. Hepatitis C and alcohol. Hepatology 1997;26(3 Suppl 1):S39-42.
28. Reed KE, Rice CM. Molecular characterization of hepatitis C virus. In: Reesink HW, ed. 2nd ed. Hepatitis C Virus. Basel: Karger; 1998.p.1-37.