

Sağlıklı (Non A-C) ve Ko-İnfeksiyonlu (HBV ve/veya HCV Seropozitif) Kan Donörlerinde Transfusion Transmitted Virus(TTV) Varlığının Araştırılması (*)

Özkan GÜLSOY (**), Bekir KOCAZEYBEK (***), Metin TULGAR (****), Abdullah AYYILDIZ (**)

(*) X Türk Klinik Mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları (KLİMİK) kongresi'nde (15-19 Ekim 2001 Adana) poster olarak sunulmuştur.

(**)Kadir Has Üniversitesi, Florence Nightingale Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Kan Ünitesi, Şişli, İstanbul.

(***) İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa, İstanbul.

(****)Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Gaziantep.

ÖZET

Yaşları 19-55 arasında değişen daha önce hiç kan transfüzyonu yapılmayan 344'ü (% 66.6) erkek, 172' si (%33.3) kadın Hepatit A virusu (HAV) yönünden 500'ü bağışık, 16'sı seronegatif 516 sağlıklı kan donörü ile 192 HBV, 54 HCV, 4 HBV ve HCV seropozitifliği olan, 185' i (% 74) erkek, 65'i (%26) kadın 250 ko-infeksiyonlu kan donörü çalışmaya alınmıştır. TTV' u araştırması Takahashi ve arkadaşlarının önerdiği primerler kullanılarak PCR yöntemiyle çalışılmıştır. Araştırmaya alınan 516 sağlıklı kan donörün' ün 132' sinde (%25.5), 250 ko-infeksiyonlu kan donörün' ün 75' inde (%30) TTV-DNA pozitif bulunmuştur. Sağlıklı kan donörlerinde cinsiyet ve kan verme şekillerine göre TTV-DNA pozitiflik oranı anlamlı bir fark göstermemiştir ($p > 0.05$), yaş gruplarından 19-28 yaş grubu 29-39 yaş grubu ve 40-55 yaş grubu ile karşılaştırıldığında TTV-DNA pozitifliği yönünden anlamlı bir fark göstermiştir ($p < 0.05$). Ko-infeksiyonlu kan donörlerinde cinsiyete göre TTV-DNA pozitifliği anlamlı bir fark göstermemiştir ($p > 0.05$). Yaş gruplarından sadece 19-28 yaş grubu ile 29-39 yaş grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Taşıyıcılık yönünden TTV-DNA pozitifliği HBV ile HCV taşıyıcıları arasında çok ileri düzeyde anlamlı bir fark göstermiştir ($p < 0.05$). Araştırmamız TTV' unun paranteral yoldan başka cinsel yada fekal-oral yollarla bulaşabileceğini, ancak viral etkenin bulaş ve patolojisiyle ilgili yeni ve geniş serili klinik çalışmaların yapılmasının gerekliliğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Sağlıklı donör ve ko-infeksiyonlu donör, TTV

SUMMARY

Investigation of Transfusion Transmitted Virus (TTV) Presence in Healthy (Non A-C) and Co-infected (HBV and/or HCV seropositive) Blood Donors

In the study we enrolled 500 seropositive for hepatitis A virus (HAV), 16 seronegative for hepatitis A virus (HAV) , 344 (66.7 %) male and 172 (33.3 %) female healthy blood donors who had not received any blood transfusion product previously and 192 HBV, 54 HCV, 4HBV and HCV seropositive blood donors. TTV investigation was performed with PCR using primers supposed by Takahashi and colleagues method. TTV-DNA was found positive in 132 (25.5 %) individuals of the 516 HBD and in 75 (30 %) individuals of the 250 CIBD. TTV-DNA positivity among HBD wasn't differing significantly according to sex ($p > 0.05$). When comparing 19-28 age group with 29-39 age group and 40-55 age group there is a significant difference in the TTV-DNA positivity. There wasn't significant difference in the TTV-DNA positivity according to sex in the CIBD ($p > 0.05$). There was significant difference only between the 19-28 age group and 29-39 age group ($p < 0.05$). TTV-DNA positivity showed significant difference among HBV and HCV carriers ($p < 0.05$). Our study suggest that ,TTV could be transmitted by the fecal-oral route, different from the parenteral and that new and wide spread continuous studies regarding the transmission pattern and pathology of the viral agent should be done.

Key words: Healthy donor and co-infected donor, TTV

GİRİŞ

Genellikle kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu ile bulaşan ve karaciğer inflamasyonuna neden olan viral etkenlerden Hepatit B virusu (HBV) için 450 mil-

yon, Hepatit C virusu (HCV) için ise 100 milyon insanın taşıyıcı olarak bulunması, enfeksiyonun kronikleşmesi ve hepatosellüler karsinomayla ilişkisi, ekonomik açıdan büyük problemler yaratması nede-

niyle viral hepatitler dünyanın en önemli sağlık sorunlarından (1,2). Hepatit A, B, C, D, E, F, G gibi hepatotropik majör etkenlerin primer, Cytomegalovirüs (CMV), Varicella Zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV) gibi non-hepatotropik etkenlerin sekonder olarak hepatositleri tutmasıyla meydana gelen viral hepatitin klinik tabloları etkenin nitelikleri ve konağın immünitesiyle ilişkili olarak akut ve kronik hepatit tarzına kadar değişkendir. Viral hepatitler temelde halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma ve sarılık gibi karaciğer inflamasyonuna bağlı belirtilerle karakterizedir. Bilinen bu hepatotropik ve non-hepatotropik virüslerin etken olarak gösterilemediği pek çok hepatit olgusunun gösterilmesi, HBV ve HCV içermeyen kan ürünleri transfüzyonu sonrası hepatitin meydana gelmesi bazı akut, kronik, fulminan hepatit olgularında ve siroz olgularında etyolojinin saptanamaması araştırmacıları başka virus arayışlarına itmiştir (3). Son yıllarda kan ve kan ürünleriyle bulaştığı ve hepatit yaptığı ileri sürülen Hepatit G virusu (HGV) ve bunu takiben hepatit virus olduğu düşünülen Transfusion Transmitted Virus (TTV) ile ilgili çalışmalarda bir artış gözlenmektedir.

Biz bu çalışmamızda serolojik ya da moleküler test yöntemleriyle etyolojik olarak non-A-C olan sağlıklı kan donörleriyle (SKD), HBV ve/veya HCV seropozitifliği olan ko-enfeksiyonlu kan donörlerinde (KİKD) TTV'nin varlığını araştırmayı amaçladık.

GEREÇ YÖNTEM

06.04.2000-02.11.2001 tarihleri arasında kan ünitesine başvuran yaşları 19-55 arasında değişen, daha önce hiç kan transfüzyonu yapılmayan 344'ü (% 66.6) erkek, 172'si (%33.3) kadın Hepatit A virusu (HAV) yönünden 500'ü bağışık, 16'sı seronegatif, HBV ile HCV'leri negatif, son bir yıl içerisinde riskli bir cinsel ilişki ve karaciğer rahatsızlığı ile ilgili bir öyküsü bulunmayan, 516 SKD'leri ile HBV yönünden seropozitif 192, HCV yönünden seropozitif 54, HBV ve HCV yönünden seropozitif yaşları 19-55 arasında değişen 185'i (% 74) erkek, 65'i (%26) kadın, 250 KİKD'lerinden alınan serum örneklerinden TTV-DNA çalışması yapılmıştır.

A)Serolojik Testler

Anti-HAV IgG, HBeAg, Anti-HBe testleri IMX cihazında

(Abbott-ABD) floresan polarizasyon yöntemiyle; Anti-HAV IgM, HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc (Total) ve Anti-HCV testleri ise Access cihazında (Beckman Coulter-ABD) kemiluminesans yöntemiyle araştırılmıştır.

B) Nükleik Asit Testleri: Çalışmamızda Takahashi ve ark. (4) önerdiği primer çiftlerinin oligo dizileri T801 (5' GCT ACG TCA CTA ACC ACG TG 3')sense primer nükleotid 6-25 ve T935 (5' CTG CGG TGT GTA AAC TCA CC 3') antisense nükleotid 204-185 primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi uygulanmıştır. Buna göre "SKD ve KİKD'lerinden alınan serum örnekleri ile elimizde bulunan pozitif ve negatif kontrollerden, fenolkloroform yöntemi ile DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstrakte edilen DNA'ların kalitesi spektrofotometrik yöntemlerle kontrol edilmiştir. Daha sonra nükleik asit amplifikasyonu amacıyla bir PCR master miksi hazırlanmıştır. Hazırlanan master miks, distile su, 10x buffer (100mM Tris-HCL pH 8.3 ve 500 mM KCL), 1.5 mM MgCl₂, 10nM dNTP miks, primerler ve Taq polimerazdan oluşmuştur. Hazırlanan miks üzerine ekstrakte edilen DNA örnekleri eklenerek thermal cyclere konmuştur. Amplifikasyonun sonucunda PCR ürünleri ethidiyum bromide ile boyanarak %2'lik agaroz jel-elektroforezinde yürütülmüştür. Marker olarak ØX174/Hae III kullanılmıştır. Sonuçlar pozitif ve negatif kontrollerle birlikte marker eşliğinde UV transilluminatörde gözlenerek değerlendirilmiştir." Araştırmamızda serumlarda gerçek pozitifliği saptamada ve pozitifliklerin konfirmasyonu için ekstraksiyon aşamasında ikişer adet pozitif ve negatif kontrol serumu kullanılmıştır. Yine master miks aşamasında da pozitif ve negatif oldukları bilinen DNA'lar çalışmaya eklenmiştir. Ayrıca her bir örnek, hem kontrol hem de hasta grubu, ikişer kez tekrar edilmiştir. Yani test hem baştan sona ikişer kez tekrar edilmiş, hem de her bir çalışmada gerek ekstraksiyon gerekse master miks aşamasında pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır (Şekil 1). İstatistiki hesaplamalarda Epi Info Version 6.0 programında ki-kare testi kullanılmıştır.

BULGULAR

İncelenen 516 SKD'nün 132'sinde (%25.6), 250 KİKD'nün 75'inde (%30) TTV-DNA pozitif bulun-

muştur. Araştırmamızda SKD' ler cinsiyet ve kan verme şekillerine göre TTV-DNA pozitifliği yönünden incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır $p>0.05$ (Tablo1,2). SKD'lerinde TTV-DNA pozitifliği yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde, 19-28 yaş grubu 29-39 ve 40-55 yaş grupları ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmuştur $p<0.05$ (Tablo3). KİKD' lerinde TTV-DNA pozitifliği cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde anlamlı bir fark bulunmamıştır $p>0.05$ (Tablo 4), KİKD' lerinde TTV-DNA pozitifliği yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde 19-28 yaş grubu ile 29-39 yaş grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur $p<0.05$ (Tablo5) KİKD' lerinde taşıyıcılık yönünden TTV-DNA pozitifliği sadece HBV ile HCV taşıyıcıları arasında çok ileri düzeyde anlamlı bir fark bulunmuştur $p< 0.05$ (Tablo6).

TARTIŞMA

Günümüzde, bilinen viral etkenlerin gösterilemediği akut ve kronik hepatitlerin varlığı devam ederken etyolojiden sorumlu olası farklı viral ajanların araştır-

Tablo 1. SKD'lerin TTV-DNA yönünden cinsiyete göre dağılımı.

TTV-DNA					
Cinsiyet	Kan Donörleri		pozitif		p değeri
	n	%	n	%	
Erkek	336	65,1	84	25.0	$p>0.05$
Kadın	180	34,9	48	26,6	
Toplam	516	100	132	25,6	

Tablo 2. SKD'lerin TTV-DNA yönünden yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş grupları	Kan Donörleri		pozitif		p değeri
	n	%	n	%	
19-28	236	45.7	77	32.6	$p<0.05$
29-39	194	37.5	38	19.6	
40-55	86	17.8	17	19.8	
Toplam	516	100	132	25,6	

*19-28 yaş grubu sırasıyla 29-39 ve 40-55 yaş grubu ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmuş ($p<0.05$), 29-39 ile 40-55 yaş grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 3.SKD'lerin TTV-DNA yönünden kan veriş şekillerine göre dağılımı.

Kan verme şekli	Kan Donörleri		pozitif		p değeri
	n	%	n	%	
İlk defa kan verenler	256	49.6	72	28.1	$p<0.05$
2-5 arası kan verenler	175	33.9	43	24.6	
Profesyonel kan verenler	85	16.5	17	20	
Toplam	516	100	132	25,6	

*Kan verme şekillerine göre aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4. KİKD'lerinin TTV-DNA yönünden cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Kan Donörleri		TTV-DNApozitif		p değeri
	n	%	n	%	
Erkek	185	74	56	30.3	$p>0.05$
Kadın	65	26	19	29.2	
Toplam	250	100	75	30	

Tablo 5.KİKD'lerinin TTV-DNA yönünden yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grupları	Kan Donörleri		TTV-DNA pozitif		p değeri
	n	%	n	%	
19-28	128	51.2	45	35.2	$p<0.05$
29-39	78	30.4	18	23	
40-55	44	18.4	12	27.3	
Toplam	250	100	175	30	

*19-28 yaş grubu 29-39 yaş grubu ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark bulunmuş ($p<0.05$), diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 6.KİKD'lerinin TTV-DNA yönünden taşıyıcılık durumuna göre değerlendirilmesi

Hepatit B ve Hepatit C taşıyıcılık durumuna göre	Kan Donörleri		TTV-DNA pozitif		p değeri
	n	%	n	%	
HBsAg (+) HCV(-)	192	76.8	42	21.9	$p<0.05$
HBsAg (-) HCV(+)	54	21.6	32	59.3	
HBsAg (+) HCV(+)	4	1.6	1	25	
Toplam	250	100	75	30	

*Taşıyıcılık durumuna göre sadece Hepatit B ile Hepatit C arasında çok ileri düzeyde anlamlı bir fark bulunmuş($p<0.05$), diğer taşıyıcılar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır($p>0.05$).

ılması moleküler biyolojik yöntemler ile gerçekleştirilmektedir. Japonya'da 1997 yılında ne A ne G' li TT isimli bir hastadan izole edilen, zarfsız tek iplikli bir DNA virusu olan TTV' nin epidemiyolojik ve etyolojik rolü üzerinde çalışmalar hız kazanmıştır. Özellikle post transfüzyon hepatitli (PTH) beş olgunun üçünün serumlarından TTV-DNA'nın gösterilmesi ve bunun ALT düzeyleriyle ilişkili olması PTH' de bu virusun sorumlu olabileceğini gündeme getirmiştir (5). Kronik B ve C hepatitli, kriptojenik kronik aktif hepatit, fulminan hepatit gibi çeşitli karaciğer hastalıklarında, sağlıklı kan donörlerinde değişik oranlarda TTV-DNA elde edilmiştir (6,7,8). TTV-DNA'nın serumda saptandığı miktarının 10-100 katının karaciğerde belirlendiği bununla TTV enfeksiyonunun ve replikasyonun karaciğerde olduğu bildirilmiştir (9). Hiç transfüzyon almamış kan donörlerinde TTV-DNA'nın yüksek oranda olması, paranteral yolla bulaş riski olmayan kişilerde de enfeksiyonun belirlenmesi ve dışkılarında DNA'nın saptanması non-paranteral yolla bulaş ihtimalini düşündür-

mektedir (9,10).

Japonya' dan bildirilen bir çalışmada kan ve kan komponentlerinin, özellikle Faktör 8-9 ve immunglobulin preparatlarında TTV-DNA' nın PCR ile saptanmadığı, kronik karaciğer hastalıklı 50 hastanın dokuzunda, 21 fulminan hepatitli hastanın dördünde TTV enfeksiyonunun saptandığı, bu oranın gönüllü donörler arasında ise % 7 olduğu bildirilmiştir (10). Charlton ve ark. (6) geçmişlerinde kan ve kan ürünü transfüzyonu hikayesi olan sirozlu hastalarda TTV-DNA oranının % 18, non-transfüze olgularda % 4, kan donörlerinde ise % 1 olduğunu bildirmişlerdir. 2000 yılında Sugiyama ve ark. (12) Okamoto ve Takahashi primerleriyle yaptıkları çalışmalarda kan transfüzyonu yapılan çocuklarda TTV-DNA oranını % 31.6, % 78.9, transfüzyon yapılmayanlarda ise % 6.7, % 60 olarak bulmuşlar, transfüzyon yapılan gruba göre yapılmayanlarda da oranın yüksek olması, parenteral bulaşın yanında, enteral bulaşın da mümkün olabileceğini bildirmişlerdir. Brezilya'da non A-C grubu hepatitli ve kan donörlerinde birbirine yakın oranda TTV-DNA pozitifliği bulunmuş, TTV' nin Brezilya'da yaygın bir enfeksiyon olduğu bildirilmiştir (13). Ülkemizde Türkoğlu ve ark. (14) non A-G akut viral hepatitlilerde %0, kontrol grubunda %9, kan donörleriyle yapılan bir çalışmada da %4.5'lik TTV-DNA pozitifliği bulunmuştur (15). Erensoy ve ark. (16) yaptıkları çalışmada TTV enfeksiyonunun kan donörlerinde yaygın olduğunu saptamışlar ve buradaki TTV genotipinin G1 ve G2 genotipleriyle ilgili olabileceğini göstermişlerdir.

Araştırmaya aldığımız 516 SKD' nün 132'sinde (%25.5), TTV-DNA pozitif saptanmıştır. Charlton ve ark.(6) non transfüze sağlıklı kan donörlerinde TTV-DNA oranını %1, Desai ve ark. (17) %12, Niel ve ark. (18) %62, Tsuda ve ark. (19) %13.6, Shcroter ve ark. (20) TTV prevalansını değişik oranlarda bulmuşlardır. Verdi ve ark. (21) %8, Erensoy ve ark. (16) %45 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda SKD' lerinde cinsiyete göre TTV-DNA oranı; erkeklerde %25, kadınlarda %26 bulunmuştur. Türkoğlu ve ark. (22) TTV-DNA oranını erkeklerde %0, kadınlarda %9.5 saptamışlardır. Çalışmamızda 19-28 yaş grubunda diğer yaş gruplarına göre anlamlı olarak yüksek oranda TTV-DNA pozitifliği saptanması ilginçtir. Bu sonucun sosyal

davranış ve cinsel ilişkisinin yoğun olduğu bu grupta olması akıllara cinsel temasta bulaş sorusunu getirmekte ve bunun başka çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Tanaka ve ark. (23) yaptıkları çalışmada yaş ve cinsiyet yönünden 100 SKD' de TTV pozitif ve negatif olgular arasında fark saptayamamışlar. Çalışmamızda SKD' lerin de kan veriş şekillerine göre TTV-DNA oranı; ilk defa kan verenlerde %28.1, iki ile beş defa kan verenlerde %24.6, profesyonel kan verenlerde %20.0 bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımız transfüze bulaş dışında enteral bulaşın ve aynı zamanda asemptomatik TTV taşıyıcılığının olabileceğini ileri süren literatür görüşleriyle uyumluluk göstermiştir.

Araştırmaya aldığımız 250 KİKD' lerinin 75'inde (%30) TTV-DNA pozitif saptanmıştır. Çalışmamızda KİKD' lerini taşıyıcılık yönünden değerlendirildiğimizde, hepatit B taşıyıcılarında %21.9, hepatit C taşıyıcılarında %59.3, hepatit B ile hepatit C taşıyıcılarında % 25 TTV-DNA pozitifliği saptanmıştır. Tanaka ve ark. (23) hepatit B taşıyıcılarında %21, hepatit C taşıyıcılarında %10, hepatit B ile hepatit C taşıyıcılarında ise %100, Vivek ve ark. (26) hepatit C taşıyıcılarında %26.6, İrving ve ark. (24) kronik hepatit C' li hastalarda %11.5, Berg ve ark. (25) tarafından %12, Akarca ve ark. (11) tarafından fulminan hepatitlilerde %36, Türkoğlu ve ark. (22) tarafından kronik B hepatitlilerde %13.6, kronik C hepatitlilerde %7.2 bulmuşlardır, Watanabe ve ark. (28) çalışmalarında HCV ko-enfeksiyon ile TTV' nin birlikteliğinin karaciğerde defektler meydana getirdiğini bildirmişlerdir, nitekim bu çalışmamızda da ko-enfeksiyonlu kan donörlerinde TTV-DNA oranlarımız bildirilen literatür görüşleriyle bir paralellik göstermektedir. KİKD' lerindeki çalışmamızda erkeklerde %30.3, kadınlarda %29.2 TTV-DNA pozitifliği bulunurken, Vivek ve ark. (26) erkeklerde %23, kadınlarda %19.9 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda KİKD' lerinde yaş gruplarına göre; 19-28 yaş grubunda %35.2, 29-39 yaş grubunda %23.0, 40-55 yaş grubunda %27.3 TTV-DNA pozitifliği bulunurken. Nishizawa ve ark. (27)KİKD' lerinde TTV-DNA oranını 2 yaş altındakilerde %8.3, 2-6 yaş grubu arasında %23.3, 7-12 yaş grubu arasında %13.6, 13-18 yaş grubunda %8.5, 19-44 yaş grubunda %24.4, 45 yaş üzeridekilerde %3.3 olarak bildirmişlerdir.. Gerek

kendi sonucumuzu gerekse literatür irdelemeleri TTV' nin yüksek düzeydeki değişkenliği ve konaktaki viral popülasyonun karmaşıklığı nedeniyle çalışmalarda seçilen primerleri ya da reaksiyona giren nükleik asit miktarı DNA ekstraksiyonuyla ilişkili kullanılan yöntemler farklılıklar göstermekte, bu da son derece değişken TTV-DNA sonuçlarının bulunmasına neden olmaktadır.

Sonuçlar, TTV'nin, gerek transfüzyon gerek non-transfüzyon yollarla bulaşın olabileceğini düşündüren viral etkenin, epidemiyolojik özelliklerinin ve hepatik-ekstra hepatik patolojilerinin daha net tanımlanabilmesi için karaciğerdeki patogenezi ve klinik önemine yönelik yeni, geniş serili klinik çalışmaların yapılmasının gerekliliğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Moradpour D, Wands JR: Understanding Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 332: 1092 (1995).
2. Brunetto MR, Capra G, Randone A: Wild-type and HBeAg-minus HBV fluctuations. Cause or effect of chronic hepatitis B pathogenic mechanisms? "Nishioka K, Suzuki H, Mishiro S, Oda T, (eds): *Viral Hepatitis and Liver Disease*", p261, Springer-Verlag, Tokyo (1994).
3. Linnen J, Wages J Jr, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, Koonin E, Gallagher M, Alter M, Hadziyannis S, Karayiannis P, Fung K, Nakatsuji Y, Shih JW, Young L, Piatak M Jr, Hoover C, Fernandez J, Chen S, Zou JC, Morris T, Hyams KC, Ismay S, Lifson JD, Kim JP.: Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: A transfusion-transmissible agent. *Science* 271: 505 (1996).
4. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, Yoshida N, Mishiro S: Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepatol Res* 12: 233 (1998).
5. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M: A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 8: 274 (1997).
6. Charlton M, Adjei P, Poterucha J, Zein N, Moore B, Therneau T, Krom R, Wiesner R.: TT-Virus infection in North American blood donors, patients with fulminant hepatic failure and cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 28: 839 (1998).
7. Gimenez Barcons M, Forn X, Ampurdanes S, Guileira M, Soler M, Soguero C, Sanchez Fueyo A, Mas A, Bruix J, Sanchez Tapias JM, Rodes J, Saiz JC.: Infection with a novel human DNA virus (TTV) has no pathogenic significance in patients with liver diseases. *J Hepatol* 30: 1028 (1999).
8. Tangkijvanich P, Theamboonlers A, Hirsch P, Kullavanijaya P, Suwangool P, Poovarowan Y: TT virus infection in chronic liver disease. *Hepatogastroenterology* 46: 1053 (1999).
9. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Fukuda M, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M.: Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol Res* 10: 1 (1998).
10. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M: Fecal excretion of a non-enveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis. *J Med Virol* 56: 128 (1998).
11. Colombatto P, Brunetto MR, Kansopon J, Oliveri F, Maina A, Aragon U, Bortoli ML, Scatena F, Baicchi U, Houghton M, Bonino F, Weiner AJ.: High prevalence of G1 and G2 TT-virus infection in subjects with high and low blood exposure risk: identification of G4 isolates in Italy. *J Hepatol* 31: 990 (1999).
12. Sugiyama K, Goto K, Ando T, Mizutani F, Terabe K, Kawabe Y, Yokoyama T, Wada Y.: Prevalence of TTV DNA among children with a history of transfusion or liver disease. *J Med Virol* 60: 172 (2000).
13. Niel C, de Olivera JM, Ross RS, Gomes SA, Rogendor M, Viazov S: High prevalence of TT virus infection in Brazilian blood donors. *J Med Virol* 57: 259 (1999).
14. Türkoğlu S, Çakaloğlu Y, Şentürk H: Çeşitli hasta gruplarında yeni bir DNA virüsü (TTV)' nün araştırılması, IV. Ulusal Viral Hepatit Simpozyumu s. 201 (4-6 Kasım 1998).
15. Tunçbilek S, Coşkun D, Çetinkaya F, Hızıl N, Tahtakılıç P: İstanbul' da kan donörlerinde TT Virüsü (TTV) prevalansının araştırılması. *Flora* 4: 273 (1999).
16. Erensoy S, Sayiner AA, Akarca US, Yazan Sertöz R, Özacar T, Bilgiç A: TTV infection in Turkish blood donors. *J Microbiol Met* 38:232 (1999).
17. Desai SM, Muerhoff AS, Leary TP: Prevalence of TT virus infection in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses. *J Infect Dis* 179:1242 (1999).
18. Niel C, de Olivera JM, Ross RS, Gomes SA, Rogendor M, Viazov S: A novel DNA virüs (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241:92 (1997).
19. Tsuda F, Okamoto H, Ukita M, Tanaka H, Miyakawa Y, Mayumi M: Determination of antibodies to TT virus (TTV) and application to blood donors and patients with posttransfusion non-A to G hepatitis in Japan. *J Virol Methods* 77:199 (1999).
20. Schroter M, Feucht HH, Schafer P: TT virüs viremi and liver transplantation : No significant increase of the prevalence. *Blood* 92:4877 (1998).
21. Verdi H, Uzunalimoğlu Ö, Çağsın H: Türkiye'de kan donörleri, hemodiyaliz, talasemi major, Behçet ve Lichen Planus hastalarında TTV prevalansı, III Ulusal Hepatoloji

kongresi Bildiri Kitapçığı s.35 (1999).

22. Türkoğlu S, Önel D, Bozacı M ve ark: TT virus infection in turkish patients with fulminant hepatic failure and cryptogenic liver disease. *Acta Microbiol Immunol Hungarica* 46:465 (1999).

23. Tanaka H, Okamoto H, Luengrojanakul P, Chainuvat T, Tsuda F, Tanaka T, Miyakawa Y, Mayumi M.: Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A to G hepatitis in hepatitis patients and healthy blood donors in Thailand. *J Med Virol* 56: 234 (1998).

24. Irving WL, Ball JK, Berridge S: TT virus infection in patients with hepatitis C: Frequency, persistence, and sequence heterogeneity. *J Infect Dis* 180:27 (1999).

25. Berg T, Schreier E, Heuft HG: Occurrence of a novel DNA virüs (TTV) infection in patients with liver diseases and its frequency in blood donors. *J Med Virol* 59:117 (1999).

26. Vivek R, Cora L, Hien T, Lance T, Pong K: Lack of Association between Acquisition of TT Virus and Risk Behavior for HIV and HCV infection in Vietnam. *Infect Dis* 4:181 (1999).

27. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M: A novel in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 241:92 (1997).

28. Watanabe H, Shinzawa H, Shao L, Saito T, Takahashi T: Relationship of TT virus infection with prevalence of hepatitis C virus infection and elevated alanine aminotransferase levels. *J Med Virol* 58: 235 (1999).