



Kahramanmaraş İli Hepatit C Virüs ile Enfekte Bireylerde Genotip Dağılımı ve Genotipin HCV-RNA Yükü ve ALT-AST İlişkisi

The Relationship Between Distribution of HCV-RNA and ALT-AST Levels with Genotypes of Hepatitis C Virus Infected Patients

Özlem KIRIŞÇI, Ahmet ÇALIŞKAN, Sümeyra ALKIŞ KOÇTÜRK, Pınar ERDOĞMUŞ, Mustafa GÜL
Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kahramanmaraş, Türkiye

ÖZET

Amaç: Dünya genelinde yaklaşık 170-300,000,000 kişinin HCV ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. HCV akut enfeksiyonların %20'sine ve kronik aktif hepatit olgularının % 70'ine neden olmaktadır. Asemptomatik seyir ve kronikleşme; HCV vakalarında en önemli sorundur. Virüsün hızlı replikasyonu ve RNA transkripsiyon hatalarının hızlı çoğalması kronikleşmede önemli bir role sahiptir. Transkripsiyon hatalarının bir sonucu olarak, HCV farklı genetik dizileri görünür. Genotip 4, 5, 6 yalnızca belirli bölgelerde görülebilir iken genotip 1a, 1b, 2a, 2b, 3a ise dünya genelinde gözlenebilmektedir. Bu çalışmada Necip Fazıl Kahramanmaraş Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen HCV RNA pozitif 100 hastadan elde edilen yeni tanı konmuş ve tedavi edilmemiş hasta kan örneklerinin HCV genotipleri ve ALT-AST profilleri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntemler: Laboratuvarımıza gönderilen kan örneklerinin RNA ekstraksiyonu (Qiagen, Qiasymphony Dsp Virus/Patojen Midi Kit,Almanya) ile ve kantitasyonu ise Rotor-Gene Rg-3000 (Corbett Araştırma, Qiagen) ile yapıldı. Örneklerin genotiplemeşi Real Time PCR reaktif kiti (Genome Diagnostics, India) ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çok değişkenli analizimizde, demografik veriler ile farklı genotipleri değerlendirirken cinsiyetler arasında genotip dağılımında anlamlı bir birliktelik saptanmış; genotip 3'ün erkek hastalar arasında yaygın olduğu görülmüştür ($p=0.0001$) (Tablo 1). Yine genotip 3 genç hastalarda yaygın görülürken (Ortalama yaş: 23); genotip 1 ise daha yaşlı hastalarda (ortalama yaş: 58,5) gözlemlendi.

Sonuç: Genotip dağılımı ile HCV RNA yükü ($p> 0,005$) ve AST seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır fakat genotip 3 hastalarında ALT seviyeleri anlamlı derecede yüksek görülmüştü ($p= 0,0001$). Genotip 1 hastalarının; yüksek oranda (% 60) tespit edilmesi de sonuçların ülkemizdeki diğer literatürle uyum göstermekte bu da demografik veri katkısı oluşturmaktadır. (*Viral Hepatit Dergisi 2013; 19(2): 67-70*)

Anahtar Kelimeler: HCV, genotip, real time PCR

ABSTRACT

Objective: Approximately 170-300 million people worldwide are estimated to be infected with HCV. HCV is the causative agent about 20% of acute infections and %70 of chronic active hepatitis cases. Asymptomatic course and leading chronicity is the most important problem in HCV cases. The rapid replication of the virus and RNA transcription errors have important role in chronicity. As a result of errors, different genetic sequences of HCV appear. These genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a may present worldwide, while the genotypes 4, 5, 6 were only in certain regions. In this study, we investigated HCV genotypes and ALT, AST profiles of newly diagnosed and untreated blood samples obtained from 100 patients positive for HCV RNA admitted to Necip Fazıl Kahramanmaraş City Hospital microbiology laboratory.

Materials and Methods: Blood samples were sent to our laboratory and extracted to yield RNA (Qiagen, Qiasymphony Dsp Virus/Patojen Midi Kit,Germany) and had the RNA quantitation with Rotor-Gene RG-3000 (Corbett Research, Qiagen). Genotyping of samples was carried out with Real Time PCR Reagents Kit (Genome Diagnostics, India).

Results: In our multivariable analysis, while evaluating the association of the different genotypes with demographic data, we find a notable difference in genotype distribution among genders and it was obviously seen that genotype 1 was common among older patients, while genotype 3 was common among younger subjects.

Conclusion: This study demonstrated the existence of genotype 1 patients highly prevalent (%60) in our study. Although there was no statistically significant relationship between genotype distribution and HCV RNA load ($p>0.005$) and AST levels; ALT levels in group of genotype 3 were significantly higher ($p=0.0001$). Genotype 1 patients were 60% of all and the results of prevalence rates are consistent with other literature in Turkey. (*Viral Hepatitis Journal 2013; 19(2): 67-70*)

Key words: HCV, genotype, real time PCR

Giriş

Hepatit C virüsü (HCV) bütün dünyada hepatit, siroz ve karaciğer kanserinin en önemli etkenidir (1). Bu virüs, Flaviviridae ailesi içinde yer alan, zarflı tek iplikli bir RNA virüsüdür. Dünya genelinde yaklaşık 170-300 milyon insanın HCV ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Akut hepatit infeksiyonlarının %20'sinde, kronik hepatitlerin ise %70'inde etken HCV'dir (1-3). Akut hepatit

C infeksiyonlarının %70-90 oranında kronikleşmesi ve çoğunlukla asemptomatik seyir göstermesi en önemli problemdir (1,4).

Kronikleşmede virüsün hızlı replikasyon göstermesi ve bu replikasyon sırasında ortaya çıkan RNA transkripsiyonundaki hatalar önemli rol oynar. Bu hatalar sonucu, kronik hepatit C'li hastalarda HCV'nin farklı genetik sekansları ile heterojen bir topluluk oluşur. Bu farklı topluluklar HCV için genotipleri oluştururlar. HCV'nin altı

Tablo 1. Genotiplere göre HCV RNA, ALT, AST, yaş dağılımı

| | p | Ortalama±Standart Sapma | Medyan (Ortanca) | Minimum-Maksimum |
|---------|---------------|-------------------------|------------------|------------------|
| Hcv_rna | 0,053 (>0,05) | 792671,4833±886522,029 | 519474 | 235-4025193 |
| TİP 1 | | 756077,22±1381616,25 | | |
| TİP 3 | | | 230450,5 | 2936-6460294 |
| Alt | 0,0001* | | | |
| TİP 1 | | 51,033±35,536 | 41 | 10-215 |
| TİP 3 | | 138,2±218,178 | 81,5 | 11-1085 |
| Ast | 0,057 (>0,05) | | | |
| TİP 1 | | 43,067±26,93 | 39 | 13-141 |
| TİP 3 | | 75,6±119,29 | 47 | 14-657 |
| Yaş | 0,0001* | | | |
| TİP 1 | | 56,73±14,85 | 58,5 | 20-89 |
| TİP 3 | | 25,45±8,37 | 23 | 18-55 |

* : p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 2. Genotiplere göre cinsiyet dağılımı

| | Erkek | Kadın | Toplam |
|-----------|-----------|----------|--------|
| Genotip 1 | 27 (%45) | 33 (%55) | 60 |
| Genotip 3 | 40 (%100) | 0 | 40 |
| Toplam | 67 | 33 | 100 |

major genotipi ve 100 den fazla subtipi olduğu saptanmıştır (5,6). Bunlardan genotip 1a, 1b, 2a, 2b, 3a tüm dünyada yaygın şekilde görülürken, genotip 4, 5, 6 sadece belli bölgelerde saptanmıştır (7).

Kronik HCV'li olguların tedavisinde interferon ve ribavirin kombinasyonu kullanılmaktadır (8). Son zamanlarda kronik hepatit C tedavisinde standart tedaviye yanıtız veya relaps hastalarında proteaz inhibitörü olan telepravir ve bocepravir kullanılabilir. HCV enfeksiyonlarında farklı genotiplerin, oluşacak hastalık tablosu ve tedavide farklılıklar ortaya çıkardığı bilinmektedir. Bu yüzden HCV genotiplerinin belirlenmesi klinik ve epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır (4,9,10).

Bu çalışmada Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına HCV enfeksiyonu tanısıyla gönderilmiş hastalara ait kan örneklerinden elde edilen, HCV RNA pozitif 100 serumda HCV genotip, HCV RNA, ALT, AST profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Mart 2010-Ağustos 2012 tarihleri arasında Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına HCV enfeksiyonu tanısıyla gönderilmiş; HCV RNA ve HCV genotipi çalışılmış 100 hasta değerlendirilmeye alınmıştır.

ALT değerinin normal sınır aralığı kadınlarda <35 IU, erkeklerde <40 IU/ml, AST' nin normal sınır aralığı kadınlarda <31 IU/ml, erkeklerde <37 IU/ml olarak alınmıştır (Roche Diagnostics, Almanya).

HCV enfeksiyonu tanısıyla laboratuvarımıza gönderilen kan örneklerinden viral RNA, ticari ekstraksiyon kiti (QIAGEN, QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, Almanya) kullanılarak

elde edilmiş ve aynı gün PCR kiti (artus HCV QS-RGQ Kit, Almanya) ile HCV RNA kantitasyonu Rotor-Gene RG-Q (Qiagen, Almanya) cihazı yardımıyla çalışılmıştır. (Duyarlılık 21 IU/ml)

Örneklerin genotiplendirilmesi Geno Sen's HCV Genotyping 1/2/3/4 Real Time PCR Reagents Kiti (Genom Diagnostic, India) ile gerçekleştirilmiştir.

Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama ± standart sapma ve kategorik değişkenler sayı (yüzde) olarak verildi. Gruplar arası farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi ve Ki-kare analizi kullanıldı. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Hastaların 33'ü kadın (%33), 67' si (%67) erkek , yaş aralığı 18 ile 89 arasında değiştiği, kadınların yaş ortalaması: 59,88±13,68 , erkeklerin yaş ortalaması: 36,51±17,91 idi.

Genotip 1 hastalarının viral yük değerleri 235 kopya/ml ile 4,02E+10⁶ IU/ml arasında değiştiği, ortalama 7,92E+10⁵ ± 8,86E+10⁵ IU/ml olduğu saptandı. Genotip 3 hastalarının viral yük değerleri 2,93E+10³- 6,46E+10⁶ IU/ml arasında değiştiği, ortalama 7,56E+10⁵± 1,38E+10⁶ IU/ml olduğu saptanmıştır. Genotiplere göre olguların HCV RNA dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunamadı (p >0,05).

Genotip 1 hastalarının yaşlarının 20-89 arasında değiştiği ve ortalama 56,73±14,85 olduğu, genotip 3 hastalarının yaşları 18-55 arasında olup ortalama 25,45±8,37 olarak saptandı. Genotip 1 deki hastaların yaş ortalaması genotip 3'e göre daha yüksek bulundu. Genotipe göre olguların yaş dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptandı (p=0,0001).

Genotip 1 hastalarının ALT değerleri 10 -215 IU/ml arasında değiştiği ve ortalamasının 51,033±35,536 IU/ml olduğu, genotip 3 hastalarında ALT değerleri 11-1085 IU/ml arasında değiştiği, ortalamasının 138,2±218,178 IU/ml olduğu saptandı. Genotip 3 hastalarının ALT değerleri genotip 1'e göre daha yüksek belirlendi. Genotipe göre olguların ALT dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki olduğu saptandı (p=0,0001).

Genotip 1 hastalarının AST değerleri 13 ile 141 IU/ml arasında olup ortalama $43,067 \pm 26,93$ IU/ml olduğu, genotip 3 hastalarının 14-657 IU/ml arasında değiştiği ve ortalama $75,6 \pm 119,29$ IU/ml olduğu saptanmıştır. Genotipe göre olguların AST dağılımları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p > 0,05$).

Genotip 1 de 27 (%45) erkek, 33 (%55) kadın olmak üzere toplam 60 hasta, genotip 3 de 40 (100) erkek hasta mevcuttu. Genotip 3'deki hastalarda erkek cinsiyet baskın olarak saptandı. Genotiplere göre olguların cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlendi ($p = 0,0001$).

Tartışma

Viral Hepatitle Savaşım Derneği (VHSD) tarafından Sağlık Bakanlığı'nın izni ve desteği ile 2008-2011 yılları arasında "Toplum Bilinçlendirme ve Hepatit Epidemiyolojisinde Değişimi Belirleme" faaliyetleri kapsamında ise ülkemizin tüm coğrafi bölgelerini ve birçok ili kapsayan bilgilendirme ve bilinçlendirme toplantıları, tarama testleri ve anket uygulamalarını kapsayan çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda 2011 verilerine göre 21,785 bireyden 154'ünde araştırıldığında 154 (%0,7)'ü Anti-HCV pozitifliği bulunmuştur (11).

HCV ile enfekte hastalarda hastanın yaşı, hastalığın süresi, alkol kullanımı, karaciğerin histolojik özelliği, diğer hepatit virusleri ile koinfeksiyon, virusun bulaşma yolu, viral yük ve HCV'nin genotipik değişkenliği kronik enfeksiyon gelişmesinde rol oynayan faktörlerdir (1,2,4).

Türkiye'de hepatit C'li olgularda genotip dağılımı ile ilgili Abacıoğlu ve ark.'nın yaptığı çalışmada 89 HCV RNA pozitif olguda %75,3 tip 1b, %19,1 tip 1a, %3,4 tip 2 ve %2,2 oranında tip 4 saptanmıştır (12). Yarkin ve ark.'nın 2000 yılında Revers Transkriptaz-PCR yöntemi kullanarak yaptığı 72 olguluk çalışmada %82,2 tip 1b, %14,5 tip 1a, %3,3 tip 2a bulurken (13), 2002 yılında Erensoy ve ark.'nın 45 olguda yaptığı çalışmada %66,7 tip 1b ve %33,3 tip 1a saptanmıştır (14). Ural ve ark.'nın 2007'de Konya bölgesinde yaptığı çalışmada 80 HCV RNA pozitif olgunun tamamı genotip 1b olarak bildirilmiştir (15). Türkiye'de yapılan çalışmalarda genotip 1b'nin %66,7-100 oranı ile HCV genotipleri içinde birinci sıklıkla saptanan tip olduğu görülmektedir. Bunu %5,8-33,3 oranında genotip 1a izlemektedir. Genotip 2a, 3a, 4, 4c ise daha az sıklıkla bildirildiği gözlenmektedir (12,16).

Literatürde bu konuda yapılmış çalışmalarda bazı ülkelerde belirli genotiplerin hakim olduğu bildirilmiştir. Lübnan'da Mahfaud ve ark.'nın yaptığı 28 HCV RNA pozitif olguluk çalışmada %57 genotip 3, %21 genotip 1, %18 genotip 4, %4 ise genotip 1 ve 3 olarak miks genotip saptamışlardır (17). İtalya'da Cenci ve ark.'nın yaptığı 915 hasta ile yaptığı çalışmada ise %49 ile genotip 1 ilk sırayı alırken bunu %34,8 ile genotip 2, %11,9 ile genotip 3, %3,6 ile genotip 4 izlemiştir (18).

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz HCV RNA pozitif 100 hastanın 60'ı tip 1 iken 40'ı tip 3 olarak gözlemlendi. Çalışmamızda tip 2 ve tip 4'e rastlayamadık. Tip 1 hastalarının oranı literatür ile yakın bulunurken, tip 3 hastalarının %40 oranında ve erkek cinsiyetin baskın olmasının, tip 3'ün demografik özelliklerinden kaynaklanabileceğini bize düşündürmektedir (11). Çalışmamızda hastaların demografik özellikleri değerlendirmeye alınmamıştır ancak %40 oranında genotip 3 oranının bulunması bize bu hasta grubunun yine ülkemiz verilerine göre genotip 3'ün genotip 1'den sonra en çok görülen tip olduğu bilgisini desteklemektedir. Ayrıca çalışmamızda genotip 1 hastalarının ağırlıklı olarak daha çok yaş ortalaması büyük olan hastalarda görüldüğünü saptadık. Bu veri çeşitli kaynaklarda Tip

1'in virusun genetik diferensiyasyon öncesi ilk saptanan tipi olması ve yine hastaları ilk enfekte eden tipin tip 1 olduğu yönünde fikir vermektedir. Bazı kaynaklarda da bu baskınlığın tip 1 virusunun daha iyi çoğalma özelliğinden kaynaklanabileceği belirtilmektedir (19).

Çalışmamızda genotiplere göre HCV RNA ve AST düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamışken ($p > 0,05$) genotipe göre ALT değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p = 0,0001$).

Çakravarti ve ark.'nın 2011 yılında 71 olguda yaptıkları çalışmada örnekler arasında %63,39 tip 3, %30,98 tip 1, %5,63 tip 2 bulunmuştur. Ayrıca genotip ile viral yük ve biyokimyasal parametreler arasında AST hariç anlamlı bir ilişki bulunamamışlardır (20).

Gökahmetoğlu ve ark. 2007 yılında Kayseri'de 57 olguda (35 kadın, 22 erkek, yaş ortalaması 48 ± 10); %96,5 oranında genotip 1b, %3,5'ini genotip 1a bildirmişlerdir. Ayrıca bakılan serum AST, ALT ve HCV RNA düzeyleri arasında anlamlı fark saptamamışlardır (21).

Çalışmamızda genotiplerle serum ALT-AST seviyeleri ve HCV RNA kantitatif düzeylerinin karşılaştırılması amacıyla; genotip 1 hastaları bir grup, genotip 3 hastaları diğer grup olarak ele alınmıştır. Ancak istatistiksel olarak, genotip ile AST ve HCV RNA kantitatif düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bu sonuç, daha önce yapılan çalışma sonuçları ile uyumlu görünmektedir (12,21). Ancak çalışmamızda genotipler ile ALT arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Serum ALT düzeylerinin karaciğer hasarının (nekroinflamatuvar aktivite indeksi ve fibrozisin) önemli bir göstergesi olduğu, serum ALT değerlerinin karaciğer biyopsisine karar verme ve kronik C hepatitli hastalarda tedavi ihtiyacı konusunda yönlendirici olabileceğini ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır (22,23).

Sonuç olarak klinik sürecin takibi ve antiviral tedavinin seçiminde HCV'nin genotip tayini yol göstericidir. Tüm dünyada ve ülkemizde olduğu gibi çalışmamızda da en yaygın genotipin tip 1 olduğu gözlenmektedir. Bu bağlamda bölgemizde HCV enfeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisinin belirlenmesi ve genotip profilinin takibi açısından bu tip çalışmalar önemlidir. Ancak HCV genotiplerinin yanı sıra subtiplerin de belirlenmesine yönelik çalışmaların kronik HCV enfeksiyonunun klinik takibine ne kadar katkı sağladığı henüz tartışma konusu olup; bir epidemiyolojik marker olduğu birçok çalışmada gözlemlenmiştir (24). Çalışmamızın temel sonuçlarından birisi de genotip farklılığı ile kronik HCV hastalarında serum AST seviyelerinin ve HCV RNA kantitatif düzeylerinin anlamlı derecede ilişkili olmadığıdır. Ancak kesin bir kanaya varmak için daha geniş çaplı çalışmalar gerekmektedir. Serum ALT değerlerinin yine daha kapsamlı çalışmalar ışığında kronik C hepatitli hastalarda tanı ve tedavi konusunda yönlendirici olabileceğini düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması: Bildirilmemiştir.

Kaynaklar

1. Koff RS. Hepatitis C. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, eds. Infectious Diseases. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams. 2004: 779-84.
2. Akız H. Kronik C hepatitinde tedavi. Çakaloğlu Y, Ökten A, ed. Kronik Viral Hepatitlerde Tedavi Yaklaşımları. Ankara: Bilimsel Tip Yayınevi. 1998: 57-62.
3. Sünbül M, Leblebicioğlu H. Kronik hepatit C tedavisinde PEG-interferonların kullanımı. Flora. 2003; 8: 3-16.
4. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the Liver and Biliary System. 11th ed. London: Blackwell Publishing Ltd. 2002: 305-19.

5. Davis GL. Hepatitis C genotypes and quasispecies. *Am J Med.* 1999; 107: 21-26.
6. Forns X, Bukh J. The molecular biology of hepatitis C virus, genotypes and quasispecies. *Clinics in Liver Diseases.* 1999; 3: 693-716.
7. Thomas DL, Lemon SM. Hepatitis C. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* 6 th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2005: 1950-1981.
8. Sünbül M, Leblebicioğlu H. Kronik hepatit C tedavisinde PEG-interferonların kullanımı. *Flora.* 2003; 8: 3-16.
9. Kobayashi Y, Watanabe S, Konishi M, et al. Quantitation and typing of serum hepatitis C treated with interferon-beta. *Hepatology.* 1994; 18: 1319-1325.
10. McOmish F, Yap PL, Dow BC, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: An international collaborative study. *J Clin Microbiol.* 1994; 32: 884-892.
11. Tosun S. Viral Hepatitlerin Ülkemizdeki Değişen Epidemiyolojisi. *Ankem Derg.* 2013; 27: 128-134.
12. Abacıoğlu YH, Davidson F, Tuncer S, et al. The distribution of hepatitis C virus genotype in Turkish patients. *J Viral Hepat.* 1995; 2: 297-301.
13. Yarkin F, Hafta A. Kronik hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda hepatit C virus genotiplerinin dağılımı. *Viral Hepatit Dergisi.* 2000; 3: 164-167.
14. Erensoy S, Göksel S, Akarca US, Özkahya M, Canatan D. Hepatit C virusun polimeraz zincir reaksiyonu ürünlerinin doğrudan dizi analizi ile genotiplendirilmesi. *Flora.* 2002; 7: 104-111.
15. Ural O, Uğur A, Fındık D. Konya Bölgesinde Hepatit C Virüsü Genotip Dağılımı. *İnfeksiyon Dergisi.* 2007; 21: 175-181.
16. Yıldız E, Öztan A, Sur F, et al. Molecular characterization of a full genome Turkish hepatitis C virus 1b isolate (HCV-TR1): A predominant viral form in Turkey. *Virus Gene.* 2002; 25: 169-177.
17. Mahfaud Z, Kassak K, Kreidieh K, Shamra S, Ramia S. Distribution of hepatitis C virus genotypes among injecting drug user in Lebanon. *Virology Journal* 2010; 7:96.
18. Cenci M, De Soccio G, Recchia O. Prevalence of hepatitis C virus(HCV) genotypes in central Italy. *Anticancer Res.* 2003; 23: 5129-5132.
19. Davis GL. Hepatitis C genotypes and quasispecies. *Am J Med.* 1999; 107: 21-26.
20. Chakravarti A, Dogra G, Verma V, Srivastava AP. Distribution pattern of HCV genotypes & its association with viral load. *Indian J Med Res.* 2011; 133(3): 326-331.
21. Gökahmetoğlu S, Atalay MA, Kılınc A. Hepatit C Virüs Genotiplerinin Pirosekanslama Yöntemi ile Belirlenmesi. *Erciyes Tıp Dergisi.* 2011; 338(2): 99-102.
22. Cross TJ, Quaglia A, Hughes S, Joshi D, Harrison PM. The impact of hepatic steatosis on the natural history of chronic hepatitis C infection. *J Viral Hepat.* 2009 Jul; 16(7) :492-9. Epub 2009 Feb 5.
23. Özkara S, Tosun I, Sarı B, Kılıç G, Aker V.F, Sezikli M et al. The Correlation of Serum Transaminase Values with Fibrosis Staging and Necroinflammatory Activity Scores in Chronic Hepatitis. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2011; 31(1): 68-74
24. Genetic organization and diversity of the Hepatitis C virus .Q.-L. Choo, et al. *Proc. Nat. 1 Acad. Sci. USA* Vol. 88, pp.2451-5, March 1991.