# بررسی آنتی بادی E2 ویروس هپاتیت G ( HGV anti-E2 ) در پرسنل بخش دیالیز

علی اسلامی فر[۱]، آرزو آقاخانی*[۱]، آمیتیس رمضانی[۲]، رسول همکار[۳]، فرخ لقا احمدی[۴]، لطیف گچکار[۵]، شهناز اتابک[۶]، علی خامنه[۷]، رامین قدیمی[۸] و علی اکبر ولایتی[۹]

۱. پاتولوژیست، استادیار انستیتو پاستور ایران
۲. متخصص عفونی، استادیار انستیتو پاستور ایران
۳. PhD ویروس شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۵. متخصص عفونی، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۶. فوق تخصص نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۷. فوق لیسانس میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی ، لاهیجان
۸. فوق تخصص گوارش، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۹. فوق تخصص عفونی کودکان ، بیمارستان مسیح دانشوری

* نشانی برای مکاتبه: تهران ،خیابان پاستور، انستیتو پاستور ایران،گروه تحقیقات بالینی تلفن:۶۶۴۶۵۱۴۷ فاکس،۶۶۴۰۹۴۶۷
aaghakhani@pasteur.ac.ir
دریافت مقاله: آذر ماه هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ: دی ماه هشتاد و پنج

## چکیده

**سابقه و هدف:** *ویروس هپاتیت G (HGV) از دسته ویروسهای منتقله از راه خون می باشد. برخی مطالعات احتمال آلودگی شغلی با این ویروس در پرسنل بخش دیالیز را نشان داده اند. آنتی بادی E2 ویروس هپاتیت G (HGV anti-E2) تماس قبلی فرد با ویروس هپاتیت G را نشان می دهد. هدف از این مطالعه بررسی وضعیت HGV anti-E2 در پرسنل بخش دیالیز می باشد.*

**مواد و روش ها:** *این مطالعه در یک مرکز دیالیز شهر تهران انجام شده است. در ۲۷ پرسنل بخش دیالیز ، وجود HGV anti-E2 با استفاده از روش ELISA بررسی شد و با فراوانی آنتی بادی در ۷۷ بیمار همودیالیزی(HD) و ۱۳ بیمار پریتونئال دیالیزی(CAPD) مقایسه گردید. در تمام افراد مورد مطالعه آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HBsAg)، آنتی بادی هپاتیت B (anti-HBs) و آنتی بادی هپاتیت C (anti-HCV) نیز اندازه گیری شد.*

**نتایج:** *HGV anti-E2 در هیچیک از پرسنل بخش دیالیز یافت نشد(۰٪). میزان آنتی بادی در بیماران HD و CAPD به ترتیب ۳/۸۹٪ و ۰٪ بود. میزان anti-HCV و anti-HBs در پرسنل دیالیز به ترتیب ۰٪ و ۳۳/۳۳٪ بود.*

**نتیجه گیری:** *در مطالعه فوق HGV anti-E2 در پرسنل دیالیز یافت نشد. بنابر این خطر آلودگی شغلی با HGV در این بررسی حداقل بوده است.*

***واژگان کلیدی:*** *ویروس هپاتیت G (HGV) ، پرسنل بخش دیالیز،آنتی بادی E2 ویروس هپاتیت G (anti-E2)*

## مقدمه

اخیرا یک ویروس جدید انسانی متعلق به خانواده فلاوی ویریده که با ویروس هپاتیت C تقریبا ۳۰٪ شباهت نشان می دهد، در بیماران مبتلا به هپاتیت non-A–non-E مشخص شده است(۱،۲). Simons(۱) و Linnen(۲) جداگانه این ویروس را تحت عناوین GB virus C (GBV-C) و hepatitis G virus (HGV) گزارش نمودندکه بعدا مشخص شد که هر دوی این ویروسها یکی می باشند. ژنوم HGV یک RNA تک رشته ای حدودا ۹/۴ kb می باشد که یک open reading frame (ORF) طولانی را کد می نماید که به نوبه خود دو پروتئین پوششی (E1 و E2 ) و چندین پروتئین غیر ساختمانی (NS1-NS5) را کد می کند(۳،۴،۵)

روش اصلی انتقال HGV به صورت تزریقی از طریق خون و محصولات خونی آلوده می باشد، گرچه روشهای دیگر از جمله انتقال ورتیکال و یا از طریق بزاق نیز ذکر شده اند(۶،۷،۸،۹،۱۰).

در برخی مطالعات گزارش شده که HGV می تواند با عفونتهای حاد یا مزمن همراه باشد(۱۱). با این حال ارتباط ضعیفی بین HGV و ایجاد هپاتیت حاد گزارش گردیده است(۱۲). برخی مطالعات احتمال ارتباط HGV با هپاتیت فولمینانت را ذکر کرده اند(۱۳،۱۴)، ولی تاکنون شواهد قانع کننده ای مبنی بر نارسائی برق آسای کبد ناشی از عفونت حاد HGV گزارش نشده است(۱۳). گرچه HGV می تواند در انسانها به صورت پایدار باقی بماند، ولی تا به حال هپاتیت مزمن ناشی از عفونت HGV گزارش نشده است(۱۵).

به دلیل انتقال HGV از راههای تزریقی ، انتقال خون و محصولات خونی مهمترین عامل خطر آلودگی با این ویروس گزارش شده است(۱۵). بیماران تحت دیالیز مزمن به دلیل انتقال خونهای مکرر و پروسه های پزشکی همراه با خونریزی در معرض ابتلا به این ویروس قرار دارند(۱۶،۱۷). برخی مطالعات خطر آلودگی شغلی با این ویروس را در پرسنل بخش دیالیز ذکر کرده اند(۱۸). تا به حال اطلاعات اندکی در مورد میزان تماس پرسنل دیالیز با این ویروس و نقش آن در عفونتهای بیمارستانی در دسترس می باشد(۱۸).

تنها روشی که عفونت فعلی با HGV را نشان میدهد، اثبات وجود ویرمی در بیمار با استفاده از روش RT-PCR می باشد. روشی که بر مبنای جستجوی آنتی بادی بر علیه پروتئین پوششی E2 ( anti-E2 ) ویروس HGV می باشد، اخیرا استفاده شده است(۱۹،۲۰). anti-E2 به عنوان نشانه ای از پاکسازی ویروس در نظر گرفته می شود و آلودگی قبلی با ویروس HGV را نشان می دهد(۲۱).

هدف از این مطالعه بررسی وضعیت HGV anti-E2در پرسنل بخش دیالیز و مقایسه آن با بیماران دیالیزی می باشد. به علاوه در این مطالعه ارتباط anti-E2 با سن، جنس و عفونت همزمان با HBV و HCV بررسی شده است . همچنین وجود همزمان anti-E2 وHGV-RNA در افراد، نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روشها

این مطالعه در یک مرکز دیالیز شهر تهران انجام شده است. ۲۷ پرسنل بخش دیالیز ، ۷۷بیمار همودیالیزی(HD ) و ۱۳ بیمار پریتونئال دیالیزی(CAPD ) در این مطالعه وارد شدند.اطلاعات از طریق پرسشنامه ای شامل سن، جنس و در مورد بیماران دیالیزی تعداد ترانسفوزیونهای قبلی خون و مدت زمان دیالیز ثبت گردید.

از تمام بیماران خون گرفته شد و پلاسما جدا گردید.نمونه های پلاسما در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. در تمام افراد HBsAg، anti-HBs، anti-HCV، anti-E2 وHGV با روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)بررسی شدند. کیتهای مصرفی برایHBsAg وanti-HBs ( Hepanosticka Biomerieux, Netherlands )، anti-HCV (Biorad, Italy) وHGV anti-E2 (ClinPro International Co. LLC, USA) بودند. جهت تایید تست آنتی بادی HCV،تست Recombinant immunoblot assay (RIBA Innogenetics, Ghent, Belgium)انجام شد.سپس در نمونه های anti-E2 مثبت جهت تعیین حضور HGV-RNA ، reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) انجام گرفت.

**مراحل انجام RT-PCR برای تشخیص HGV-RNA در نمونه ها:**

**الف)** استخراج RNAی ژنومی HGV: با استفاده از کیت استخراج RNA ویروسی

"NucleoSpin® RNA virus (Machery-Nagel GmbH, Germany, Cat #: 740 956.250)" و بر اساس پروسه کیت RNAی موجود در سرمهای Anti HGV IgG antibody مثبت و نمونه کنترل مثبت که از آزمایشگاه دکتر کیوان گرفته شده بود استخراج گردید.

**ب)** RT ( Reveres Transcription) :با استفاده از Random Hexamer primer

فرمولاسیون Master Mix برای RT به ازای هر نمونه

| | |
|---|---|
| 5X RT Buffer | 6µl |
| Random Hexamer primer ( 100 µm) | 2 µl |
| dNTP mix ( 10mm) | 2.5 µl |
| RT MMULV 200U/ µl | 1 µl |
| Rnase Inhibitor 10mg/ml | 0.5 µl |
| extracted RNA | 17.5 µl |
| Total volume | 30 µl |

* برای کنترل منفی بجای RNAی استخراج شده آب مقطر استفاده شد.

نمونه ها به مدت یکساعت در دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند تا عملReverse Transcription در مورد آنها انجام شود.

**ج) PCR:**

با استفاده از پرایمرهای اختصاصی HGV فرآیند Nested PCR روی نمونه ها و کنترل مثبت انجام گرفت.

**سکانس پرایمرها:**

G58 (outer; forward), 5´- CAG GGT TGG TAG GTC GTA AAT CC- 3´
G75 (outer; reverse), 5´- CCT ATT GGT CAA GAG AGA CAT- 3´

G134 (inner; forward), 5´- GGT CAY CYT GGT AGC CAC TAT AGG - 3´
G131 (inner; reverse), 5´- AAG AGA GAC ATT GWA GGG CGA CGT -3´

پرایمرهای داخلی قطعه ای بطول ۲۰۸ جفت باز را تکثیر می دهند.

فرمولاسیون Master Mix برای دور اول PCR با پرایمرهای بیرونی به ازای هر نمونه

| | |
|---|---|
| 10X PCR Buffer | 5µl |
| Mg cl2 ( 50mm) | 1.5 µl |
| dNTP mix ( 10mm) | 2 µl |
| G58 primer ( 10mm) | 2 µl |
| G75 primer ( 10mm) | 2 µl |
| Taq DNA pol. (100 U) | 0.5 µl |
| cDNA template | 10 µl |
| D.D. Water | 27 µl |
| Total volume | 50 µl |

فرمولاسیون Master Mix برای دور دوم PCR با پرایمرهای داخلی به ازای هر نمونه

| | |
|---|---|
| 10X PCR Buffer | 5µl |
| Mg cl2 ( 50mm) | 1.5 µl |
| dNTP mix ( 10mm) | 2 µl |
| G131 primer ( 10mm) | 2 µl |
| G134 primer ( 10mm) | 2 µl |
| Taq DNA pol. (100 U) | 0.5 µl |
| product of first round of PCR | 5 µl |
| D.D. Water | 32 µl |
| Total volume | 50 µl |

رژیم حرارتی برای دور اول PCR :

| | | |
|---|---|---|
| یک سیکل | 2 min. | 94° |
| ۲۹ سیکل | 45 sec. | 94° |
| | 45 sec. | 55° |
| | 45 sec. | 72° |
| یک سیکل | 4 min. | 72° |

رژیم حرارتی برای دور دوم PCR :

| | | |
|---|---|---|
| یک سیکل | 2 min. | 94° |
| ۳۹ سیکل | 45 sec. | 94° |
| | 45 sec. | 55° |
| | 45 sec. | 72° |
| یک سیکل | 4 min. | 72° |

محصول PCR در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید (۲۲،۲۳)

## آنالیز آماری

یافته ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 و آزمونهای اماری t و chi-square (یا تست دقیق فیشر) تجزیه و تحلیل شد و مرز معنی داری اختلافات روی $P<0.05$ قرار داده شد. داده ها به صورت means ± standard deviations و در صورت لزوم عدد مطلق یا در صد گزارش شدند.

## یافته ها

در این مطالعه ۲۷ پرسنل بخش دیالیز، ۷۷ بیمار HD و ۱۳ بیمار CAPD مورد بررسی قرار گرفتند.

۶۳٪ پرسنل دیالیز زن و ۳۷٪ مرد بودند. سن متوسط آنها ۱۰/۱± ۳۸/۸ سال بود. ۲(۷٪) آنها سابقه انتقال خون داشتند.

۷۷ بیمار HD با سن متوسط ۱۶/۷ ±۵۲/۱ سال و ۱۳ بیمار CAPD با سن متوسط ۱۹/۳±۵۲/۱ سال نیز وارد مطالعه شدند. ۶۴٪ بیماران HD و ۶۹٪ بیماران CAPD مرد بودند . مدت زمان دیالیز در این بیماران به ترتیب بین ۱ تا ۲۱۸ ماه ( متوسط ۵۷/۶±۵۵/۶) در بیماران HD و بین ۱ تا ۲۴ ماه ( متوسط ۷/۶±۹/۴)در بیماران CAPD بود. ۸۱٪ بیماران HD و ۱۵٪ بیماران CAPD سابقه انتقال خون داشتند(متوسط ۳/۵ +۴/۹ بار در بیماران HD و ۰/۸۵±۰/۳۱ بار در بیماران CAPD).

anti-E2 در هیچیک از پرسنل دیالیز یافت نشد. anti-HCV ، HBsAg و anti-HBs به ترتیب در ۰٪، ۰٪ و ۳۳/۳۳٪ پرسنل مثبت بودند. میزان anti-HBs در پرسنل دیالیز بیش از میزان anti-HGV E2 در آنها بود.

anti-E2 در ۷۷/۳ ( ۳/۸۹٪) بیماران HD مثبت بود. سن متوسط بیماران anti-E2 مثبت ۵ /۲۶±۵۳/۳ سال و سن متوسط بیماران anti-E2 منفی ۴ /۱۶±۴۹/۱ سال بود( اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود).

anti-HCV، HBsAg و anti-HBs به ترتیب در ۶/۴۹٪، ۶/۴۹٪ و ۵۷/۱۴٪ بیماران HD مثبت بودند. درهر دو گروه بیماران anti-E2 مثبت و منفی از نظر عفونت همزمان با HCV و HBV اختلاف معنی داری وجود نداشت. ۶۶/۶۶٪ بیماران anti-E2 مثبت و ۸۶/۴۸٪ بیماران anti-E2 منفی سابقه انتقال خون داشتند(اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود).مدت زمان متوسط دیالیز در بیماران anti-E2 مثبت ۶۴±۶۸ ماه و در بیماران anti-E2 منفی ۵ /۵۵±۴۸/۲ ماه بود( اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود). در هیچیک از بیماران anti-E2 مثبت ، HGV-RNA یافت نشد.

Anti-E2در هیچیک از بیماران CAPD یافت نشد. anti-HCV ، HBsAg و anti-HBs نیز در هیچیک ازاین بیماران مثبت نبودند.

## بحث

بیماران دیالیزی به دلیل نیازهای مکرر به انتقال خون و اختلال ایمنی موجود در بدن ، در خطر آلودگی به ویروسهای منتقله از راه خون می باشند(۲۴).به ویژه در بیماران HD به دلیل عفونتهائی که در جریان دیالیز منتقل می گردند، خطر بیشتری وجود دارد(۲۵). بیماران تحت دیالیز مزمن به دلیل انتقال خونهای مکرر و پروسه های پزشکی همراه با خونریزی در معرض ابتلا به ویروس HGV قرار دارند(۱۶،۱۷).به نظر می رسد آلودگی با این ویروس موجب هپاتیت منتقله از راه خون گردد(۲۶).برخی مطالعات خطر آلودگی شغلی ویروسHGV را در پرسنل بخش دیالیز ذکر کرده اند(۱۸).

در مورد شیوع HGV-RNA در بیماران دیالیزی اطلاعات متناقضی در دسترس می باشد که ممکن است بدلیل میزان متفاوت شیوع HGV در جمعیتهای مختلف، حجم افراد مورد مطالعه، روشهای مورد استفاده برای یافتن HGV و مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران باشد(۲۷). به نظر میرسد مدت زمان دیالیز، نیاز به انتقال خون و پیوند کلیه از عوامل خطر آلودگی به HGV در بیماران HD باشند(۲۷). در مطالعات مختلف میزان این آلودگی در بیماران HD بین ۳ تا ۵۷٪ گزارش شده است( ۱۴،۱۶، ۲۸-۳۱). در یک گزارش مقدماتی از ایران سرم بیماران HD از نظر HGV منفی گزارش شدند(۳۲).از سوی دیگر به دلیل تعدادکم بیماران CAPD ، اطلاعات کمی در مورد شیوع HGV در این بیماران در دسترس است(۳۳). در مطالعات مختلف شیوع HGV-RNA را در بیماران CAPD بین ۱۲/۷٪ تا ۲۳/۳٪ گزارش کرده اند(۳۳،۳۴). تا به امروز اطلاعات کمی از شیوع تماس با HGV در پرسنل دیالیز در دسترس است(۱۸). در مطالعه ای در مصر(۳۵) این مقدار را ۶/۶٪ و در مطالعه دیگری در آلمان(۱۸) ۱۰٪ ذکر کرده اند.

Anti-E2 غالبا بعد از ناپدید شدن HGV-RNA از سرم ، ایجاد می شود و نشاندهنده آلودگی قبلی با HGV همراه با پاک شدن ویروس می باشد (۳۶). در کشورهای اروپائی سروپوزیتیویتی anti-E2 از ۱۰/۹٪ در آلمان تا ۱۵/۳٪ در اطریش متفاوت می باشد. در آفریقای جنوبی این مقدار ۲۰/۳٪ و در برزیل ۱۹/۵٪ گزارش شده است. در کشورهای آسیائی از جمله بوتان( ۳/۹٪)، مالزی (۶/۳٪) و فیلیپین(۲/۷٪) این مقدار پایینتر بوده است(۳۷).

شیوع anti-E2 در بیماران HD بین ۷٪ در ژاپن(۳۸) تا ۲۹٪ در آلمان(۳۹) متفاوت بوده است. این میزان در مورد بیماران CAPD بین ۰(۴۰) تا ۱۰/۵٪( ۳۳،۳۴) گزارش شده است. تنها یک گزارش مقدماتی از آلمان در مورد مثبت بودن anti-E2 در پرسنل دیالیز در دسترس است که این میزان را ۱۴٪ گزارش کرده است(۱۸).در مطالعه ما anti-E2 در هیچیک از پرسنل دیالیز و بیماران CAPD مثبت نبود و میزان آن در بیماران HD ۳/۸۹٪ بود.

این یافته ها نشاندهنده این مطلب هستند که میزان تماس پرسنل دیالیز ما با HGV حداقل می باشد. نتایج ما با نتایج مطالعه Shibuya و همکارانش(۴۱) که ریسک کمی از آلودگی شغلی با HGV را در پرسنل دیالیز گزارش کرده اند، مطابقت می کند ولی در عین حال با مطالعه Gartner و همکارانش(۱۸) که ریسک آلودگی بالایی با این ویروس را در کارمندان بخش دیالیز گزارش کرده اند ، متفاوت می باشد. میزان اندک anti-E2 انتی بادی در موارد گزارش شده از ایران با میزان پایین آن با سایر کشورهای آسیائی مطابقت می کند(۳۷). به طوریکه میزان مثبت بودن anti-E2 حتی در بیماران دیالیزی ما نیز پایین می باشد.

در اغلب مطالعات مثبت شدن anti-E2 با از بین رفتن HGV-RNA همراه می باشد(۴۲،۴۳،۴۴).در مطالعه ای در آلمان ۳٪ بیماران همزمان دارای anti-E2 وHGV-RNA بوده اند(۴۵). این همزمانی در ۰/۶٪ افراد در تایوان گزارش شده است(۴۶). در مطالعه ما مانند اغلب مطالعات(۴۲،۴۳،۴۴) در هیچیک از افراد anti-E2 مثبت ،HGV-RNA یافت نشد. و این یافته تایید کننده این مطلب است که ایجاد آنتی بادی با پاک شدن HGV-RNA از سرم همراه می باشد.

برخی مطالعات همراهی HGV و HCV را گزارش کرده اند(۳۱،۴۷). Tanaka و همکارانش میزان عفونت همزمان HGV و HCV را ۱۱ ٪( ۴۸) ، Martinot و همکارانش ۲۱ ٪( ۴۹) و Fabrizi و همکارانش (۵۰) تا۸۲٪ گزارش کرده اند. از سوی دیگر برخی مطالعات هیچگونه عفونت همزمان بین HGV و HCV را نشان ندادند(۵۱)دربیماران CAPD هیچ رابطه ای بین مثبت بودن anti-E2 و مارکرهای HCVگزارش نشده است(۳۴). برخی مطالعات همراهی HGV و HBV را گزارش کردند(۵۲،۳۱) ولی برخی دیگر چنین ارتباطی را ذکر نکرده اند(۳۴). در مطالعه ما ارتباط معنی داری بین وجود anti-E2 در بیماران و مارکرهای هپاتیت B و C یافت نشد. این امر میتواند نشاندهنده وجود راه های انتقال خاصی برای HGV متفاوت از HBV و HCV باشد.

در اغلب مطالعات تفاوت قابل ملاحظه ای بین افراد anti-E2 مثبت و منفی از نظر سن و جنس گزارش نکرده اند(۱۸،۳۵). بدین لحاظ مطالعه ما با سایر کشورها تطبیق می نماید.

به طور خلاصه دراین مطالعه HGV anti-E2 در پرسنل دیالیز یافت نشد. بنابر این خطر آلودگی شغلی با HGV در این بررسی حداقل بوده است.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از انستیتوپاستور ایران برای حمایت مالی از این تحقیق تشکر می نمایند.

## REFERENCES

1. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matias TJ, Muerhoff AS, Schlauder GG, et al. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. Nature Med 1995; 1: 564–569.

2. Linnen J, Wages J, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H,et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus. A transfusion-transmissible agent. Science1996; 271: 505–508.

3. Roth WK, Waschk D, Marx S, Tschauder S, Zeuzem S, Bialleck H, et al. Prevalence of hepatitis G virus and its strain variant, the GB agent, in blood donations and their transmission to recipients. Transfusion 1997; 37: 651–656.

4. Katayama K, Kageyama T, Fukushi S, Hoshino FB, Urinary C, Ishiyama N, et al. Full-length GBV-C/HGV genomes from nine Japanese isolate: characterization by comparative analyses. Arch Virol 1998; 143: 1063-1075.

5. Gang Li, Hui-Hui Ma, Geroge KK Lau, Yin-Kit Leung, Chun-Lan Yao, Chun-Lan Yao, et al. Prevalence of hepatitis G virus infection and homology of different viral strains in Southern China, WorldJGastroenterol, 2002;8(6):1081-1087.

6. Lefrère JJ, Roudot Thoraval F, Morand Joubert L, Brossard Y, Parnet Mathieu F, Mariotti M, et al. Prevalence of GB virus type C/hepatitis G virus RNA and of anti-E2 in individuals at high or low risk for blood-borne or sexually-transmitted viruses: evidence of sexual and parenteral transmission. Transfusion 1999; 39: 83-94.

7. Lefrere JJ, Sender A, Mercier B, Mariotti M, Pernot F, Soulie JC, et al. High rate of GB virus type C/HGV transmission from mother to infant: possible implications for the prevalence of infection in blood donors. Transfusion 2000; 40: 602-607.

8. Chen M, Sonnerborg A, Johansson B, Sallberg M. Detection of hepatitis G virus (GB virus C) RNA in human saliva. J Clin Microbiol 1997; 35: 973-975.

9. Seemayer CA, Viazov S, Philipp T, Roggendorf M. Detection of GBV-C/HGV RNA in saliva and serum, but not in urine of infected patients. Infection 1998; 26: 39-41.

10. Yashina TL, Favorov MO, Khudyakov YE, Fields HA, Znoiko OO, Shkurko TV, et al. Detection of hepatitis G virus (HGV) RNA: clinical characteristics of acute HGV infection. J Infect Dis 1997; 175: 1302-1306.

11. Ling BH, Zhuang H, Cui YH, An WF, Li ZJ, Wang SP, Zhu WF. A cross-sectional study on HGV infection in a rural population. World J Gastroenterol 1998; 4: 489-492.

12. Corun C, Jadoul M, Loute G, Goubau P. Hepatitis G virus infection in haemodialysis patients: epidemiology and clinical relevance. Nephrol Dial Transplant1997; 12: 1326–1329.

13. Sheng L, Soumillion A, Beckers N, Wu CG, Verslype C, Nevens F, et al. Hepatitis G virus infection in acute fulminant hepatitis: prevalence of HGV infection and sequence analysis of a specific viral strain. J Viral Hepatitis 1998; 5: 301-306.

14. Moaven LD, Locarnini SA, Bowden DS, Kim JP, Breschkin A. Hepatitis G virus and fulminant hepatic failure: infection. J Hepatol 1997; 27: 613-619.

15. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Wesley R, Shih JW, Kim JP. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. N Engl J Med1997; 336: 747–757.

16. Masuko K, Mitsui T, Iwano K, Yamazaki C, Kenji O, Meguro T, et al. Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. N Engl J Med 1996. 334: 1485-1490.

17. De Lamballerie X, Charrel RN. Hepatitis GB virus C in patients on hemodialysis. N Engl J Med, 1996; 334: 1549.

18. Gartner B, Kaul H, Neutzling A, Sauter M, Mueller-Lantzsch N and Kohler H. High prevalence of hepatitis G virus (HGV) infections in dialysis staff. Nephrol dial Transplant 1999; 14:406-408.

19. Dille BJ, Surowy TK, Gutierrez RA, Coleman PF, Knigge MF, Carrick RJ, et al. An ELISA for detection of antibodies to the E2 protein of GB virus C. J Infect Dis 1997; 175: 458–461.

20. Tacke M, Kiyosawa K, Stark K, Schlueber V, Ofenloch-Haehnle B, Hess G, Engel AM. Detection of antibodies to a putative hepatitis G virus envelope protein. Lancet 1997; 349: 318–320.

21. Thomas DL, Vlahov D, Alter HJ, Marshall R, Astemborski J, Nelson KE. Association of antibody to GB virus c (hepatitis G virus) with viral clearance and protection from reinfection. J Infect Dis 1998; 177: 539–542.

22. Sugai Y, Nakayama H, Fukuda M, Sawada N, Tanaka T, Tsuda F, et al. Infection with GB virus C in patients with chronic liver disease. J. Med. Virol. 1997; 51:175-181.

23. Andonov A, Sauder C, Jacobsen H, Chaudhary R. Comparison of six sets of PCR primers from two different genomic regions for amplification of GB virus C/hepatitis G virus RNA J. Clin. Microbial. 1998 36: 286-289.

24. Goldblum SE, reed WP. Host defenses and immunologic alternations associated with chronic hemodialysis. Ann Intern Med 1980; 93:597-613.

25. Jakobs C, Brunner C, Hantler C. Dialysis,Transplantation,nephrology.poc 14th congr Eur Dial Transplant assoc, 1997.

26. Sheng L, Widyastuti A, Kosala H, Donck J, Vanrenterghem Y, Setijoso E, et al.. High prevalence of hepatitis G virus infection compared with hepatitis C virus infection in patients undergoing chronic hemodialysis. Am J Kidney Dis. 1998 Feb; 31(2):366-8.

27. Fabrizi F, Martin P. GBV-C/HGV infection in end-stage renal ,J Nephrol 1999; 12: 131-139.

28. Cabrerizo M, Bartolome J, de Sequera P, Caramelo ML, and Carreño V. GBV-C/HGV-RNA in serum and peripheral blood mononuclear cells in hemodialysis patients. Kidney Int. 1999; 56:1120-1128.

29. Desassis JF, Laperche S, Girault A, Kolko A, Bouchardeau F, Zins B, et al**.** Prevalence of present and past hepatitis G virus infection in a French hemodialysis centre. Nephrol. Dial. Transplant. 1999; 14**:**2692-2697.

30. Konomi N, Miyoshi C, Zerain CF, Li T, Arakawa Y, Abe K. Epidemiology of hepatitis B, C, E and G virus infection and molecular analysis of hepatitis G isolates in Bolivia.J ClinMicrobiol, 1999; 37: 3291-3295.

31. Forns X, Fernandez-Llama P, Costa J, Lopez-Labrador FX, Ampurdanés S, Olmedo E, et al, Hepatitis G virus infection in a haemodialysis unit: prevalence and clinical implications. Nephrol. Dial. Transplant. 1997; 12**:**956-960.

32. Zali M.R., Mayumi M, Raoufi M., Nowroozi *A* .GBV-C infection among patients with hepatitis C virus in the Islamic Republic of Iran: a preliminary report , Eastern Mediterranean Health Journal ,1999; 5(5):1023-1029.

33. Hyunjin N, Kang SW, Choi SH, Shin SK, Seo BJ, Lee IH,et al. Hepatitis G virus infection in hemodialysis and continous ambulatory peritoneal dialysis patients. Yonesi medical journal 1998;39(2):116-121.

34. Fabrizi F, De Vecchi AF, Lunghi G, Finazzi S, Bisegna S,Ponticelli C. Epidemiology of GB virus C/Hepatitis G virus infection in patients on peritoneal dialysis. Perit Dial Int 2002;22:405-410.

35. El-Zayadi AR, Abe K, Selim O, Naito H, Hess G, Ahdy A. Prevalence of GBV-C/hepatitis G virus viraemia among blood donors, health care personnel, chronic non-B non-C hepatitis, chronic hepatitis C and hemodialysis patients in Egypt. J Virol Methods. 1999 Jun; 80(1):53-8.

36. Pilot-Matias TJ, Carrick RJ, Coleman PF, Leary TP, Surowy TK, Simons JN, et al. Expression of the GB virus E2 glycoprotein using the Semliki Forest virus vector system and its utility as a serologic marker. Virology 1996; 255: 282-292.

37. Ross RS, Viazov S., Schmitt U., Schmolke S. , Tacke M., Ofenloch-Haehnle B., et al. Distinct prevalence of antibodies to the E2 protein of GB virus C/hepatitis G virus in different parts of the world(Abstract). J. Med. Virol 1998; 54:103-106.

38. Shibuya A, Takeuchi A, Kamata K, Saugenji K, Kobayashi N, Yoshida A. Prevalence of hepatitis G virus RNA and anti-E2 in a Japanese haemodialysis population. Nephrol Dial Transplant 1998; 13: 2033-6.

39. Schulte-Frohlinde E, Schmolke S, Reindl W, Schatzle G, Scherf J, Kopp KF, et al. Significance of antibodies to recombinant E2 protein of hepatitis G virus in haemodialysis patients. J Viral Hepatitis 1998; 5: 341–344.

40. Campo N, Sinelli N, Brizzolara R, Torre F, Gurreri G, Russo R, et al. Hepatitis G virus infection in haemodialysis and in peritoneal dialysis patients. Nephron 1999; 82:17-21.

41. Shibuya A, Takeuchi A, Sakurai K, Saigenji K. Hepatitis G virus infection from needle-stick injuries in hospital employees. J Hosp Infect. 1998 Dec; 40(4):287-90.

42. Stránský J: Discovery of hepatitis G virus. Journal of Czech Physicians 1996; 4:99-101.

43. Lefrère JJ, Loiseau P, Maury J, Lasserre J, Mariotti M, Ravera N,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, 1997; 90(9): 3776-3780.

44. Mushahwar IK, Zuckerman JN: Clinical implications of GBvirus-C. Journal of Medical Virology 1998; 56: 1-3.

45. Hinrichsen H, Leimenstoll G, Stegen G, Schrader H, Fölsch U.R and Schmidt W.E. Prevalence of and risk factors for hepatitis G (HGV) infection in haemodialysis patients: a multicentre study. Nephrol Dial Transplant 2002;17: 271-275.

46. Huang JJ, Lee WC, Ruaan MK, Wang MC, Chang TT, Young KC. Incidence, transmission, and clinical significance of hepatitis G virus infection in hemodialysis patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2001 Jun; 20(6):374-9.

47. Wang Y, Chen HS, Fan MH, Liu HL, An P, Sawada N, et al. Infection with GB virus C and hepatitis C virus in hemodialysis patients and blood donors in Bejing. J Med Virol 1997; 52: 26-30.

48. Tanaka E, Alter HJ, Nakatsuji Y, Shih W-K, Kim JP, Matsumoto A, et al. Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. Ann Int Med 1996;125:740-3.

49. Martinot M, Marcellin P, Boyer N, Detmer J, Pouteau M, Castelnau C, et al. Influence of hepatitis G virus infection on the severity of liver disease and response to interferon alpha in patients with chronic hepatitis C. Annals of internal medicine, 1997, 126:874-81.

50. Fabrizi F, Lunghi G, Bacchini G, Corti M, Guarnori I, Raffaele L, et al. Hepatitis G virus infection in chronic dialysis patients and kidney transplant recipients. Nephrol. Dial. Transplant. 1997; 12:1645-1651.

51. Tringali G. Prevalence of HGV infection in hemodialysis patients from eastern Sicily, Giorn. It. Nefrol. 1998; 15: 141-147.

52. Klusonova H, Pliskova L, Palicka V, Fixa P. Prevalence of viral hepatitis G infection in hemodialysis patients and coinfection with viral hepatitis B and CVnitr Lek. 2001 Oct; 47(10):678-81.