

## HEPATİT B VİRUS (HBV) SEROLOJİK BELİRLEYİCİLERİ İLE HBV DNA'NIN VARLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI

### COMPARISON OF HEPATITIS B VIRUS (HBV) SEROLOGICAL MARKERS AND EXISTENCE OF HBV DNA

Mustafa ALTINDIŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon

**Anahtar Sözcükler:** Hepatit B Virus (HBV), HBV DNA, HBsAg, HBeAg, antiHBe

**Key Words:** Hepatitis B Virus (HBV), HBV DNA, HBsAg, HBeAg, antiHBe

## ÖZET

*Bu çalışmada; Hepatit B Virus (HBV)'a ilişkin olarak HBsAg, HBeAg, antiHBe ve antiHBc total pozitifliği ile viral replikasyonun göstergesi olan HBV DNA'nın korelasyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Toplam 155 hasta serum örneğinde HBV DNA Hybrid Capture yöntemi ile, hepatit markerleri ise mikroELISA kitleri ile tam otomatize sistemlerde araştırılmıştır. HBV DNA testinde 10 pg/ml ve üzeri olumlu, 1-10 pg/ml arasındaki değerler ise +/- olarak değerlendirilmiştir. HBV DNA, HBsAg olumlu 110 örneğin 22'si (% 20) ile, HBsAg olumsuz 45 örneğin ikisinde (% 4.4) pozitif, HBsAg olumluların 14'ünde (% 12.7), olumsuzların ise yedisinde (% 15.6) +/- değerlerde saptanmıştır. HBeAg olumlu, antiHBe olumsuz 24 örneğinin 15'inde (% 62.5), HBeAg olumsuz, antiHBe olumlu 72 örneğin dördünde (% 5.5), HBeAg ve antiHBe birlikte olumlu yedi örneğin ikisinde (% 40.0), HBeAg ve antiHBe'nin olumsuz olduğu dokuz örneğin birinde (% 11.1) HBV DNA olumlu bulunmuştur. HBeAg olumlu ve antiHBe olumsuz gruptaki HBV DNA'nın olumluluk oranı, HBeAg olumsuz antiHBe olumlu gruptakilere göre anlamlı olarak yüksektir. HBsAg olumsuz örneklerden HBV DNA ile karşılaşmayı gösteren HBsAg, antiHBc yada antiHBs'den hiçbirinin bulunmadığı 25 örneğin hiçbirinde HBV DNA 10 pg/ml üzerinde saptanmazken, % 12'sinde +/- değerlerde bulunmuştur. AntiHBs olumlu, sadece antiHBe ve antiHBc olumlu ve salt antiHBc olumlu örneklerde HBV DNA'nın olumluluk oranları sırası ile % 0.0, % 25.0 ve % 10.0'dur. Çalışma sonuçlarına göre; serumda HBV DNA varlığının HBeAg olumluluğu ile ilişkili olduğu ve 10 pg/ml'den düşük miktarların değerlendirilmesi için olguların izlenmesi ve daha duyarlı testlerin gerekliliği düşünülmüştür.*

## SUMMARY

*Hepatitis B Virus (HBV) exists commonly all over the world and causes chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. For this reason, early diagnosis and proper treatment of the infection are of almost importance. Existence of HBV DNA is proven by means of molecular diagnostic methods. The aim of this study was co-assessment of HBsAg and antiHBc total positivity and existence of HBV DNA. Totally 155 serum samples were screened for the presence of HBV DNA with Hybrid Capture method and for hepatitis markers with Microenzyme Immune Assay. HBV DNA was positive in 20 % of 110 HBsAg positive and in 4.4 % of 45 HBsAg negative serum samples. HBV DNA was +/- in 15.9 % of 110 HBsAg positive and in 8.8 % of 45 HBsAg negative serum samples. HBV DNA was positive in 62.5 % of 24 serum samples which were HBeAg positive and antiHBe negative, 5.5 % of 72 which were HBeAg negative and antiHBe positive, 40.0 % of five which were both HBeAg and antiHBe positive, 11.1 % which were*

negative for both. The positivity rate and the median of HBV DNA of HBeAg positive and antiHBe negative group were significantly higher than the HBeAg negative and antiHBe positive group. Among 40 serum samples which were negative for the serological indicators of HBV exposure (HBsAg, antiHBs, antiHBc), HBV DNA was not positive while HBV DNA was +/- in 12.0 %. HBV DNA positivity in antiHBs positive, only antiHBe and antiHBc positive and isolatec antiHBc positive groups were, respectively, 0.0 %, 25.0 % and 10.0 %. According to the results of this study, detection of HBV DNA in serum is directly correlated with HBeAg seropositivity and for the evaluation of HBV DNA results lower than 10 pg/ml, monitorization of cases and more sensitive tests are necessary.

## GİRİŞ

Hepatit B Virus (HBV) enfeksiyonu, akut ve kronik şekilleri ile (kronik hepatit, siroz, hepatosellüler karsinoma) Türkiye'de ve tüm dünyada yaygın olan önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu nedenle kronik hepatit enfeksiyonlarının tanısının konulması, viral replikasyonun saptanarak tedavisinin erken dönemde yönlendirilmesi büyük önem taşımaktadır (1).

Hepatit B Virus enfeksiyonuyla ilgili çalışmaların çoğunluğu, HBV'nin antijenik yapıları ve virusa karşı oluşan gelişen antikorların serumda araştırılması temeline dayanmaktadır. Moleküler hibridizasyon tekniklerinin kullanıma girmesi, HBV'una bağlı hastalıkların patofizyolojisi ile ilgili anlayışı çok genişletmiştir. Mutant suş enfeksiyonları da göz önünde bulundurulduğunda, HBV enfeksiyonunun tanısı ve prognostik takibinde eldeki serolojik testlerin yetersiz kalacağı açıktır (2). Hepatit B Virus DNA, aktif HBV replikasyonunun, HBeAg'ye göre daha özgül ve duyarlı bir göstergesidir. Ayrıca hasta serumunda virus partiküllerinin kantitatif olarak belirlenebilmesini sağladığından, HBsAg, HBeAg, antiHBe, antiHBc IgM ve HBV polimeraz testlerine göre daha çok fikir verir (3, 4). Alışılmadık HBV sero-immunolojik profillerinde olayı aydınlatmada HBV enfeksiyonunun prognozunu belirlemede ve kronik B hepatiti tedavisinin etkinliğini izlemede yararlıdır. Bu çalışmada farklı serolojik profillerde, serum HBV DNA'sının araştırılması ve serolojik belirleyicilerle korelasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır

## GEREÇ VE YÖNTEM

Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Mayıs 2000-Temmuz 2001 tarihleri arasında değişik klinik ve diğer hastanelerden gönderilen 155 serum örneğinde HBV serolojik göstergeleri ve HBV DNA varlığı araştırılmıştır. Hepatit markerlerinden HBsAg, antiHBs, antiHBc IgG, HBeAg ve antiHBe testleri mikroELISA ile (Organon Teknika, Hollanda), HBV DNA Hybrid Capture (Digene, Abbott Lab. ABD) tekniği ile çalışılmıştır. Testte 50 µl hasta serumu denatüre edilmiş ve HBV DNA probu ile hibridize edilmiştir. Daha sonra RNA:DNA hibridleri alkalen fosfatase ile konjuge edilmiş, antihibrit antikor ile kaplı tüplere aktarılmış ve kemilümini-

sant bir substrat kullanılarak saptanmıştır. Kit içerisindeki standart serumlar kullanılarak olumlu sonuçların pg/ml cinsinden kantitasyonu sağlanmış, test duyarlılığı, 103±10 pg/ml HBV DNA içeren standart serumun negatif kontrol serumu ile seri dilüsyonları hazırlanarak test edilmiş, 10 pg/ml üzerindeki sonuçlar olumlu, 1-10 pg/ml arası DNA saptanan örnekler ise +/- olarak belirlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık 2 testi ile yapılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmada HBsAg olumlu 110 örneğin 22'sinde (% 20), HBsAg olumsuz 45 örneğin ikisinde (% 4.4) HBV DNA olumlu, HBsAg olumluların 14'ünde (% 12.7), olumsuzların ise yedisinde (% 15.6) +/- değerlerde saptanmıştır. HBsAg olumlu örneklerin % 80'inde HBV DNA negatif bulunmuştur (Tablo 1).

**Tablo 1.** HBsAg pozitif ve negatif örneklerde HBV DNA sonuçları

	>10 pg/ml (+)		1-10 pg/ml (+/-)		Olumsuz (-)		Toplam Sayı
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
HBsAg (+)	22	20.0	14	12.7	74	67.3	110
HBsAg (-)	2	4.4	7	15.6	36	80.0	45
Toplam	24	15.5	21	13.5	110	70.1	155

HBV: Hepatit B Virus

HBsAg olumlu örneklerde; HBeAg olumlu, antiHBe olumsuz 24 serumun 15'inde (% 62.5), HBeAg olumsuz, antiHBe olumlu 72 örneğin dördünde (% 5.5), HBeAg ve AntiHBe birlikte olumlu beş örneğin ikisinde (% 40.0), HBeAg ve AntiHBe'nin de olumsuz olduğu dokuz örneğin birinde (% 11.1) HBV DNA olumlu bulunmuştur. HBV DNA'sının 1-10 pg/ml arasında bulunma oranı ise HBeAg olumlu-antiHBe olumsuzlarda % 8.3, HBeAg olumsuz-antiHBe olumlularda %11.1 olup her ikisi de olumlu ve her ikisi de olumsuzlarda sırası ile % 40.0 ve % 22.2 bulunmuştur (Tablo 2).

Araştırmada HBsAg olumlu grupta, HBeAg olumlu ve antiHBe olumsuz bireylerde HBV DNA'nın saptanma oranı, HBeAg olumsuz antiHBe olumlu gruptakilere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0.05). HBeAg olumlu antiHBe olumsuz örneklerde HBV DNA'nın +/- değerlerde bulunma oranı (% 8.3) ile HBeAg olumsuz,

antiHBe olumlu gruptaki oran (% 11.1) arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmamıştır (p>0.05).

**Tablo 2.** HBsAg olumlu örneklerde HBV DNA-HBeAg ilişkisi

	>10 pg/ml (+)		1-10 pg/ml (+/-)		Olumsuz (-)		Toplam Sayı
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
HbeAg (+), antiHBe (-)	15	62.5	2	8.3	7	29.2	24
HbeAg (-), antiHBe (+)	4	5.5	8	11.1	60	83.3	72
HbeAg (+), antiHBe (+)	2	40.0	2	40.0	1	20.0	5
HbeAg (-), antiHBe (-)	1	11.1	2	22.2	6	66.7	9
Toplam	22	20.0	14	12.7	74	67.3	110

HBV: Hepatit B Virus

HBsAg yanı sıra HBeAg, antiHBc ya da antiHBs'den hiçbirinin olumlu bulunmadığı 25 örnekte HBV DNA 10pg/ml üzerinde saptanmazken, % 12.0'inde +/- değerlerde bulunmuştur. AntiHBs olumlu, sadece antiHBe ve antiHBc olumlu ve salt antiHBc olumlu örneklerden HBV DNA'sının olumluluk oranları sırası ile % 0.0, % 25.0 ve % 10.0'dur. Bu örneklerde HBV DNA'sının +/- olumluluk oranları ise aynı sıra ile % 16.7, % 25.0 ve % 20.0 olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** HBsAg olumsuz örneklerde HBV DNA belirlenme sıklığı

	>10 pg/ml (+)		1-10 pg/ml (+/-)		Olumsuz (-)		Toplam Sayı
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	
HBV serolojisi (-)	0	0	3	12.0	22	88.0	25
AntiHBs (+) doğal	0	0	1	16.7	5	83.3	6
AntiHBc (+), antiHBe (+)	1	25.0	1	25.0	2	50.0	4
Yalnız antiHBc (+)	1	10.0	2	20.0	7	70.0	10
Toplam	2	4.4	7	15.6	36	80.0	45

HBV: Hepatit B Virus

## TARTIŞMA

Hepatit B infeksiyonunun tanısında, başta HBsAg olmak üzere, kullanılan serolojik belirleyicilerin çeşitli farklılıklar göstermesi nedeniyle özellikle vireminin varlığını saptamada ve tanıda HBV DNA'nın sorgulanması gündeme gelmiştir. Kullanımda olan serolojik testler, genelde 100-200 pg/ml HBsAg'i saptar, bu da yaklaşık  $3 \times 10^7$  partiküldür (5). HBeAg olumlu taşıyıcıların çoğunluğunun serumunda ml'de  $10^5$ 'den fazla, antiHBe olumlularında ise daha az genom olduğu belirtilmektedir (5). HBeAg, aktif viral replikasyon ve infektivitenin göstergesi olarak kabul edilir. Buna karşın antiHBe olumluların da bulaştırıcı olabileceği bilinmektedir (6-8). Moleküler tanı yöntemlerinin HBV infeksiyonu araştırılmasında da kullanılmaya başlanması ile bir çok karanlık ortadan kalkmış, partikül niceliksel olarak ortaya konulmuştur. Bu özellikle HBsAg'nin

olumsuz olduğu olgularda HBV infeksiyonunun gösterilmesine olanak sağlamıştır (9-11). Kronik hepatitlerde interferon tedavisinde karar vermede ve izlemde HBV DNA kullanılmaktadır (5, 7, 12). Atipik HBV sero-immunolojik profillerinde olayı aydınlatmada da yine HBV DNA testi yardımcı olabilir. Pahalı olan ve çok özen gerektiren bu testin kullanım indikasyonuna dikkat edilmesi gerekmektedir. Testin duyarlılığı kullanılan yöntemlere göre değişmek üzere ortalama 0,1-10 pg/ml arasında değişmektedir (2, 8, 13). Bu da yaklaşık ml'de  $10^4$  - $10^6$  genome eş gelmektedir. Çalışma grubundaki HBsAg olumlu örneklerin % 20.0'inde aktif viral replikasyonun işareti olan HBV DNA belirlenmiştir. Us ve ark. (14) toplam 231 HBsAg pozitif hastada % 27.3 oranında HBV DNA olumlu bulmuşlar, HBV DNA pozitif bir hastada (% 1.6) HBsAg'nin negatif, HBsAg pozitif 140 hastada (% 83.5) HBV DNA'nın negatif olduğunu bildirmişlerdir. Erensoy ve ark. (15) çalışma gruplarında HBsAg olumlu örneklerin % 45.7'inde HBV DNA pozitifliği saptamışlardır. Yücesoy ve ark. (16, 17) yaptıkları iki ayrı çalışmada HBsAg olumlu olgularda HBV DNA pozitifliğini % 14.3 ve % 12.16 olarak bildirmişlerdir.

HBeAg olumluluğu ile HBV DNA varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. HBeAg olumluluğuna karşın HBV DNA olumsuzluğunun olabileceği bildirilse de genel olarak HBeAg ve HBV DNA olumlulukları birliktelik göstermektedir (2, 4-7, 13, 18). Özellikle duyarlılığı  $10^4$  kat yüksek olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile yapılan çalışmalarda antiHBe olumluluğunda da HBV DNA'nın pozitif olabileceği bildirilmektedir (19). Bu çalışmada; HBeAg olumsuz, antiHBe olumlu örneklerin % 5.5'inde HBV DNA olumlu bulunmuştur. Bu oran genellikle prekor bölgesinde stop kodon oluşturan nokta mutasyonu bulunan suşların infeksiyonu ile açıklanmakta ve sadece Hbe/antiHBe verileri ile tanı konulamayacağını ve viral replikasyonun belirlenemeyeceğini de göstermektedir (17, 18). HBsAg yanı sıra HBeAg ve antiHBe'nin de olumlu olduğu örneklerde % 40 oranında HBV DNA olumlu bulunmuştur. Bu örneklerin çoğunluğu HBeAg serokonversiyonu sırasında alınmış olabilir ve bu durum viral replikasyonun devam ettiğine dair bir göstergedir. HBeAg negatif olduğu halde antiHBs ve HBV DNA'nın birlikte pozitifliği de özellikle Akdeniz bölgesinde sık karşılaşılan bir durum olup buna gerekçe olarak kor "promoter" bölgesinde gerçekleşen bazı mutasyonlar gösterilmektedir. Sonuçta, mutasyonlar nedeniyle antiHBe (+) olgularda viremi devam etmekte ve HBV DNA (+) bulunabilmektedir. Bunlar tedaviye de dirençli olgulardır (18).

HBsAg olumsuz örneklerde % 4.4 oranında HBV DNA olumluluğu, % 15.6 oranında +/- değerler saptanmıştır. Benzer, hatta kronik hepatitlerde daha yüksek oranlar literatürde bildirilmektedir (9-11). Hepatit B Virus serolojisi-nin hepsinin negatif, HBV DNA'nın olumlu olması (bu

çalışmada % 12.0 oranında +/-), HBeAg ekspresyonun saptanabilecek düzeyin altında olan olguları gösterebildiği gibi HBVe (-) prekor mutantların infeksiyonlarında da rastlanabilmektedir (17, 18). Ayrıca immün yetmezlikli olgularda benzer tablolarla karşılaşma olasılığı da hatırdan çıkarılmamalıdır. HBsAg (-), antiHBs (+) ve HBV DNA (+) olguların nedeni olarak ta kılıf geninde ve özellikle pre-S bölgesinde meydana gelen bir dizi mutasyon gösterilmiştir (18, 19).

Klinik yorumunda güçlük çekilen salt anti-HBc ve anti-HBc+anti-HBe birlikte olumluluğunda ise sırasıyla % 10.0 ve % 25.0 oranında HBV DNA pozitifliği bulunmuştur. Salt antiHBc olumlu grupta +/- değerlere rastlama oranı daha yüksek saptanmıştır (% 20.0). HBV DNA'sı +/- bulunan kronik aktif hepatitli olgularda karaciğer biyopsi örneklerine in-situ hibridizasyon yapılması önerilmiş, karaciğer dokusunda HBV DNA varlığının araştırılması gerekliliğine değinilmiştir. Luo ve ark. (20) tek başına antiHBc olumlu bireylerde % 28.6 oranında HBV DNA varlığı saptamışlar ve bunlara HBsAg saptanamayan kronik asemptomatik HBV taşıyıcıları adını vermişlerdir. Gomes ve ark. (21) da benzer oranlar vermişlerdir. Bu nedenle, tek başına antiHBc olumlu olgulara dikkatle yaklaşılmalı ve HBV DNA izlenmelidir. Ayrıca HBsAg ve HBV DNA'nın pozitifliğine eşlik eden antiHBc negatifliğini, spesifik immun yanıt defekti başta olmak üzere çeşitli nedenlere bağlanabilmektedir (18).

Hepatit B Virus serolojik göstergelerinin olmadığı grupta ve doğal anti-HBs yanıtının izlediği grupta 10 pg/ml veya üzerinde HBV DNA olumluluğu saptanmazken, sırasıyla % 12.0 ve % 16.7 oranlarında 1-10 pg/ml değerleri bulunmuştur. Böyle olgularda da aktif viral replikasyon işareti olan HBV DNA varlığı bildirildiğine göre değerlendirmede dikkatli olmak gerekir (14, 18).

Aktif viral replikasyonun işaretleri olan HBeAg ve HBV DNA olumluluğu arasında doğru bir ilişki vardır. HbeAg ve HBsAg olumsuz olgularda da HBV DNA olumlu olabilmektedir. Hepatit B Virus serolojik göstergelerinin olmadığı, HbeAg olumsuz, antiHBe ve antiHBc'nin olumlu olduğu ya da salt antiHBc'nin pozitif olduğu durumlarda olgunun yorumunu daha da zor olmakta, bunların değerlendirilmesinde olguların izlemi, karaciğerde ve periferik mononükleer kan hücrelerinde HBV DNA'sının araştırılması ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi daha duyarlı bir serum HBV DNA testinin kullanılması yararlı olacaktır. Bir çalışmada (22), HBV DNA'yı araştırmada kullanılan kemiluminasant moleküler hibridizasyon yönteminin PCR ile % 97 oranında uyum gösterdiği bildirilmiştir. Bulgular ve literatür ışığında, HBV infeksiyonlarının tanısı, prognozun belirlenmesi ve viral replikasyonun saptanması için serolojik belirleyicilerin yetersiz kaldığı açıktır (17, 18). Kolay uygulanabilir ve yeterli duyarlılığa sahip bu yöntemin rutin HBV DNA incelemelerinde kullanılabilirliği söz konusudur (13, 18, 22).

#### KAYNAKLAR

1. Di Bisceglia A, Hoofnagle JH and ACG Committee. Antiviral therapy of chronic viral hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 650-4.
2. Zaaijer HL, Borg FT, Cuypers HTM, Hermus MCAH, Leleie PN. Comparison of method for detection of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2088-94.
3. Krosggaard K. Hepatitis B virus DNA in serum: Applied molecular biology in the evaluation of Hepatitis B infection. *Liver* 1988; 8: 257-9.
4. Ljunggren KK, Nodenfeldt E, Kidd A. Correlation of HBeAg/antiHBe, ALT levels, and HBV DNA PCR results in HBsAg positive patients. *J Med Virol* 1993; 39: 297-301.
5. Dusheiko G, Xu J, Zuckerman AJ. Clinical diagnosis of hepatitis B infection: application of polymerase chain reaction. In: Becker Y, Darai G, eds. *Diagnosis of Human Viruses by Polymerase Chain Reaction Technology*. 4th ed. Berlin: Springer Verlag, 1992: 67-85.
6. Krosggaard K, Wantzin P, Aldershvile J, Kryger P, Anderson P, Nielsen JO. Hepatitis B virus DNA in HBsAg positive blood donors: Relation to the Hbe system and outcome in recipients. *J Infect Dis* 1986; 153: 298-302.
7. Maruyama T, Lino S, Koike K, Yasuda K, Milich DR. Serology of acute exacerbation in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 1993; 105: 1141-5.
8. Jalava T, Ranki M, Bengström M, Pohjanpelto, Kallio A. A rapid and quantitative solution hybridization method for the detection of HBV DNA in serum. *J Virol Methods* 1992; 36: 171-3.
9. Brechot C, Degos F, Lugassy C, Thiers V, Franco D, Bismuth H, et al. Hepatitis B virus DNA in patients with chronic liver disease and negative tests for Hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1985; 312: 270-3.
10. Pao CC, Yao DS, Lin CY, et al. Serum hepatitis B virus seropositive and seronegative patient with normal liver function. *Am J Clin Pathol* 1991; 95: 591-3.
11. Wang JT, Wang TH, Sheu JC, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by Polymerase Chain Reaction in plasma of volunteer blood donors negative for hepatitis B surface antigen. *J Infect Dis* 1991; 163: 397-9.
12. Perrillo R, Mimms L, Schechtman K, Robbins D, Campbell C. Monitoring of antiviral therapy with quantitative evaluation of HBeAg; a comparison with HBV DNA testing. *Hepatology* 1993; 18: 1308-401.

13. **Lara CM, Gorrino MT, Campelo C, Lardelo P, Cisterna R.** Detection of hepatitis B virus DNA and determination of surface antigen expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with AIDS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1994**; 13: 267-9.
14. **Us T, Akgün Y, Kanan B.** HBV DNA PCR sonuçlarının HBV serolojik göstergeleri ile karşılaştırılması. *Viral Hepatit Derg* **2000**; 3: 175-8.
15. **Erensoy S, Özacar T, Zeyinoğlu A, Arda B, Bilgiç A.** Serumda HBV DNA'sının Hepatit B seroloji göstergeleri ile karşılaştırılması. *İnfek Derg* **1995**; 9: 157-60.
16. **Yücesoy M, Taşlı H, Bahar İH, Yuluğ N.** Değişik serolojik belirleyicilerin değerlendirilmesinde HBV DNA saptanmasının önemi. *Viral Hepatit Derg* **2000**; 2: 109-12.
17. **Yücesoy M, Bahar İH, Yuluğ N.** Hepatit B virus (HBV) serolojik belirleyicileri ile HBV DNA'nın karşılaştırılması. *İnfek Derg* **1999**; 13: 581-4.
18. **Badur S.** HBV DNA'nın virüse özgü antijen ve antikorlarla sıradışı birlikteliği. *Viral Hepatit Derg* **1998**; 1: 66-8.
19. **Badur S.** Viral hepatitlerin tanısında moleküler biyoloji teknikleri. Kılıçturgay K, Badur S, eds. *Viral Hepatit 2001'de İstanbul: Viral Hepatit Savaşım Derneği*, **2001**: 121-9.
20. **Luo K, Zhuo R, He C, et al.** Hepatitis B virus DNA in sera of virus carriers positive exclusively for antibodies to the hepatitis B core antigen. *J Med Virol* **1991**; 35: 55-9.
21. **Gomes SA, Yoshida CP, Shikata T.** Detection of hepatitis B virus DNA in hepatitis B surface antigen-negative serum by polymerase chain reaction: evaluation of different primer pairs and conditions. *Acta Virol* **1996**; 40: 133-8.
22. **Aspinall S, Steele AD, Peenze I, Mphahlele MJ.** Detection and quantitation of hepatitis B virus DNA: comparison of two commercial hybridization assays with polymerase chain reaction. *J Viral Hepatitis* **1995**; 2: 107-11.