

## HEPATİT C VİRUS (HCV) RNA VE ANTI-HCV SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI VE TRANSAMİNAZ DÜZEYLERİYLE İLİŞKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ\*

### COMPARISON OF HEPATITIS C VİRUS (HCV) RNA AND ANTI-HCV RESULTS AND EVALUATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN TRANSAMINASE LEVELS

*Nilgün KAŞİFOĞLU<sup>1</sup>, Tercan US<sup>1</sup>, Yurdanur AKGÜN<sup>1</sup>*

**ÖZET:** Bu retrospektif çalışmada, hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu ön tanısı ve/veya tanısı ile izlenen hastalara ait serumlarda saptanan HCV-RNA ile anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması hedeflenmiş, bu sonuçların hastalardaki transaminaz (ALT ve AST) düzeyleriyle ilişkisi incelenmiştir. Ocak 2002-Aralık 2004 tarihleri arasında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde takip edilen hastalara ait 690 serum örneği çalışma kapsamına alınmıştır. Hastaların eş zamanlı olarak çalışılan anti-HCV (Abbott AxSYM System HCV 3.0) ve HCV-RNA (Real Time Taqman Teknoloji, Roboscreen kit ve ABI Prism 7700 Perkin Elmer) bulguları ile ALT ve AST düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çalışma grubumuzdaki 690 örneğin 455'inde (%65.9) anti-HCV pozitif, 235'inde (%34.1) negatif bulunmuştur. Anti-HCV pozitif olan örneklerin 235'inde (%51.6) HCV-RNA pozitif, 220'sinde (%48.4) ise negatiftir. Buna karşın, anti-HCV negatif olan örneklerin 20'sinde (%8.5) HCV-RNA pozitifliği belirlenmiştir. Karaciğer enzimleri açısından incelendiğinde, 690 serum örneğinin 338'inde (%49) normal, 352'sinde (%51) yüksek ALT ve/veya AST düzeyleri saptanmıştır (23'ünde sadece AST, 57'sinde sadece ALT, 272'sinde ALT ve AST birlikte yüksek). Her iki enzimin düzeyinin de yüksek olduğu 272 örneğin %50'sinde anti-HCV ve HCV-RNA birlikte pozitif, %17'sinde sadece anti-HCV pozitif, %3.6'sında sadece HCV-RNA pozitif ve %29'unda her ikisi de negatif olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, anti-HCV negatif viremik hastaların bulunabileceği, özellikle şüpheli ve serokonversiyon gelişmeyen olguların değerlendirilmesinde moleküler yöntemlere başvurulmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

*Anahtar sözcükler: HCV-RNA, anti-HCV, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu, transaminazlar.*

**ABSTRACT:** In this retrospective study, the data of hepatitis C virus (HCV) markers (anti-HCV and HCV-RNA) obtained from the patients who were prediagnosed and/or diagnosed as HCV infection have been comparatively evaluated and the relationship between these markers and transaminase (ALT and AST) levels have been analysed. A total of 690 sera from patients who were followed-up between January 2002 to

\* Bu araştırma, 16. Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde (ESCMID, Nice, Fransa, 1-4 Nisan 2006) bildiri olarak sunulmuştur.

<sup>1</sup> Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir. (tercanus@ogu.edu.tr)

December 2004 in Eskisehir Osmangazi University Medical Faculty Hospital were included to the study. Anti-HCV (AxSYM System HCV version 3.0, Abbott Laboratories, USA) and HCV-RNA (Real-time Taqman Technology, Roboscreen kit and ABI Prism 7700 Perkin Elmer) tests were studied simultaneously and the results were examined together with the levels of ALT and AST of patients. In our study group, 455 (65.9%) of 690 samples were found positive for anti-HCV, while 235 (34.1%) were negative. Of anti-HCV positive patients, 51.6% (235/455) yielded positive and 48.4% (220/455) yielded negative results for HCV-RNA. The rate of anti-HCV negative but HCV-RNA positive sera was detected as 8.5% (20/235). When liver enzyme levels were taken into consideration, of 690 sera 338 (49%) showed normal transaminase levels, while 352 (51%) had elevated ALT and/or AST levels (23 with increased AST, 57 with increased ALT, and 272 with increased ALT and AST). Of the patients who exhibited increased ALT+AST levels (n=272), 50% were found positive for both markers (anti-HCV and HCV-RNA), 17% were only positive for anti-HCV, 3.6% were only positive for HCV-RNA, and 29% were negative for both markers. As a result, since anti-HCV negativity may be detected in viremic patients, molecular methods should be applied especially for the diagnosis of suspected cases and cases without seroconversion.

*Key words: HCV-RNA, anti-HCV, real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction, transaminases.*

## GİRİŞ

Kronik hepatitlerin en sık nedenlerinden biri olan hepatit C virusu (HCV), başlıca parenteral yolla bulaşmaktadır. HCV enfeksiyonu, 170 milyona yaklaşan hasta sayısı ile dünyada önemli bir sağlık sorunu olmayı sürdürmektedir. Hepatit C'nin akut dönemde tanımlanması oldukça güçtür; zira olguların çoğu belirsiz ve anikterik seyretmektedir. Ayrıca HCV ile enfekte kişilerde özgül antikolar yaklaşık 6-8 hafta içinde ve genellikle iktar başlangıcından sonra saptanabilir düzeylere geldiğinden, özellikle bu dönemde tanı HCV RNA'sının gösterilmesiyle mümkün olmaktadır. Ayrıca tedavi alan hastalarda viral yük takibi için, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile HCV-RNA varlığı ve düzeyinin saptanması gerekmektedir. Akut hepatit C enfeksiyonu geçirenlerin büyük bir kısmında ilerleyici karaciğer harabiyeti görülmektedir. Bu hastalarda serum alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri sürekli yüksek kalabilmekte ya da aralıklarla yükselip alçalabilmektedir.

Bu çalışmada, HCV enfeksiyonu ön tanısı ve/veya tanısı ile izlenen hastalara ait serumlarda HCV-RNA ile anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması ve bu sonuçların hastalardaki ALT ve AST düzeyleriyle ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na Ocak 2002-Aralık 2004 tarihleri arasında gönderilmiş olan 690 serum örneğinde, eş zamanlı olarak çalışılan anti-HCV ve HCV-RNA ile AST ve ALT değerleri retrospektif olarak incelendi. Çalışmanın tabiatı itibarıyla, hastaların hastalık süreleri, aldıkları tedaviler ve diğer viral hepatit belirleyicilerinin durumu sorgulanamadı.

Anti-HCV, Axsym System HCV version 3.0 (Abbott Laboratories, ABD) kiti ile üretici firmanın önerilerine göre çalışıldı. HCV-RNA ise, gerçek zamanlı ters transkriptaz kantitatif PCR ile araştırıldı. Viral RNA, QIAamp viral RNA saflaştırma protokolü (Qiagen) kullanılarak ekstrakte edildi ve yöntem Taqman teknoloji (Roche, Almanya) ile ABI Prism 7700 (Perkin Elmer, ABD) gerçek zamanlı dizi saptama sistemi kombine edilerek uygulandı. AST ve ALT düzeyleri, hastanemiz Biyokimya Laboratuvarı'nda otomatize sistemde (Roche, Almanya) çalışıldı.

İstatistiksel analizlerde "proportional t test" kullanıldı.

### BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 690 serum örneğinin 455'inde (%65.9) anti-HCV pozitifliği belirlenmiştir. Çalışma grubundan alınan anti-HCV ve HCV-RNA sonuçları karşılaştırmalı olarak Tablo I'de verilmiştir. Anti-HCV pozitif örneklerde, HCV-RNA varlığı (%51.6) ve yokluğu (%48.4) saptanan gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Toplam 690 serum örneğinin 338 (%49)'inde karaciğer enzimleri normal bulunurken, 352 (%51)'inde ALT ve/veya AST yüksek bulunmuştur. Anti-HCV ve HCV-RNA pozitif olan 235 örneğin 67'sinde (%28.5) karaciğer enzimleri normal, 168'inde (%71.5) ALT ve/veya AST yüksek olarak saptanmıştır. Anti-HCV ve HCV-RNA negatif olan 215 örneğin ise 108'inde (%50.2) karaciğer enzimleri normal, 107'sinde (%49.8) en az biri yüksek olarak saptanmıştır. Çalışma grubunun anti-HCV ve HCV-RNA sonuçları ile karaciğer enzim düzeyleri karşılaştırmalı olarak Tablo II'de görülmektedir.

**Tablo I.** Çalışma Grubunda HCV-RNA ve Anti-HCV Sonuçlarının Karşılaştırılması

	HCV-RNA (+) Sayı (%)	HCV-RNA (-) Sayı (%)	Toplam Sayı (%)
Anti-HCV (+)	235 (51.6)	220 (48.4)	455 (65.9)
Anti-HCV (-)	20 (8.5)	215 (91.5)	235 (34.1)
Toplam	255 (37)	435 (63)	690 (100)

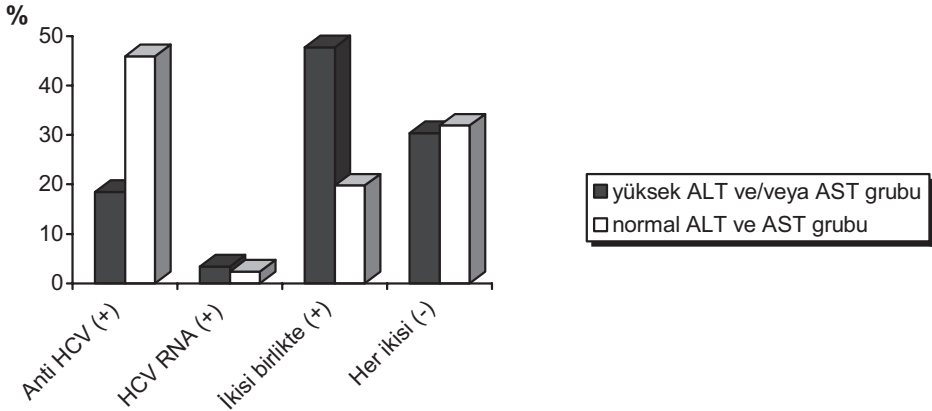
**Tablo II.** Çalışma Grubunda HCV Belirleyicileri ile Transaminaz Düzeylerinin Karşılaştırılması

	Anti-HCV (+)		Anti-HCV (-)		Toplam Sayı (%)
	HCV-RNA (+) Sayı (%)	HCV-RNA (-) Sayı (%)	HCV-RNA (+) Sayı (%)	HCV-RNA (-) Sayı (%)	
Yüksek ALT	23 (9.8)	14 (6.4)	0	20 (9.3)	57 (8.3)
Yüksek AST	8 (3.4)	5 (2.2)	2 (10)	8 (3.7)	23 (3.3)
Yüksek ALT+AST	137 (58.3)	46 (20.9)	10 (50)	79 (36.8)	272 (39.4)
Yüksek ALT/AST Toplamı	168 (71.5)	65 (29.5)	12 (60.0)	107 (49.8)	352 (51)
Normal ALT/AST	67 (28.5)	155 (70.5)	8 (40)	108 (50.2)	338 (49)
Genel toplam	235 (100)	220 (100)	20 (100)	215 (100)	690 (100)

ALT ve/veya AST yüksekliği olan grupta, vireminin eşlik ettiği anti-HCV pozitifliği oranı, her iki enzimin de normal olduğu gruptan daha fazla olarak bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Enzim düzeyleri normal olan grupta, tek başına anti-HCV pozitifliği, en az bir enzim yüksekliği olan gruptan daha yüksek olarak saptanmıştır ( $p<0.05$ ) (Tablo III, Şekil 1).

**Tablo III.** Yüksek ve Normal ALT ve/veya AST Düzeylerine Sahip Grupların Dağılımı

	Yüksek ALT/AST Sayı (%)	Normal ALT/AST Sayı (%)	Toplam Sayı
Anti-HCV (+)	65 (18.5)	155 (45.9)	220
HCV-RNA (+)	12 (3.4)	8 (2.4)	20
Anti-HCV ve HCV-RNA (+)	168 (47.7)	67 (19.8)	235
Anti-HCV ve HCV-RNA (-)	107 (30.4)	108 (31.9)	215
Toplam	352 (100)	338 (100)	690



**Şekil 1.** Karaciğer enzim düzeyleri yüksek ve normal olan grupların HCV belirleyicilerine göre dağılımı.

## TARTIŞMA

Hepatit C virusu (HCV), tüm dünyada siroz ve hepatosellüler karsinomaya yol açabilen kronik hepatitlerin majör etiyolojik ajanıdır<sup>1</sup>. HCV enfeksiyonlarının %70-80'i kronikleşmekte, kronikleşen olguların da %20-30'unda siroz ve hepatosellüler karsinoma ortaya çıkmaktadır<sup>2</sup>. HCV enfeksiyonlarının rutin laboratuvar tanısında serolojik ve moleküler testler kullanılır<sup>3</sup>. HCV enfeksiyonlarında anti-HCV antikorları hem tamamen iyileşen hem de kronikleşen hastalarda saptanabilir. Bu nedenle sadece bu laboratuvar bulgusuyla, geçirilmiş bir enfeksiyonla aktif enfeksiyon ayrımı yapılamamaktadır. Ayrıca bazı olgularda antikor yanıtı geç oluşmakta ya da hiç oluşmamaktadır<sup>4</sup>.

Bu çalışmada 690 serum örneğinin %65.9'unda anti-HCV pozitifliği saptanmıştır. Anti-HCV pozitifliğine dayanılarak yapılan çalışmalarda, ülkeler ve bölgeler arasında farklılıklar bulunmaktadır<sup>5</sup>. Anti-HCV pozitif 455 örneğin ise %51.6'sında HCV-RNA pozitifliği belirlenmiştir. Anti-HCV pozitif örneklerde HCV-RNA pozitiflik oranını Gökahmetoğlu ve arkadaşları<sup>2</sup> %36.5, Çolak ve arkadaşları<sup>6</sup> %72.4, Sönmez ve arkadaşları<sup>7</sup> ise %66 olarak bildirmişlerdir.

Anti-HCV pozitif olgularda HCV-RNA varlığı araştırılarak hastaların viremik olup olmadıkları belirlenebilir. Viral yük düzeyinin değerlendirilmesi, özellikle kronik HCV enfeksiyonlu hastalarda hastalığın seyri ve tedavi takibinde önemlidir<sup>3</sup>. Ancak bazı olgularda vireminin dalgalanma göstermesi nedeniyle aralıklı HCV-RNA pozitiflikleri görülebileceği belirtilmiştir<sup>8,9</sup>. Bu nedenle anti-HCV'si pozitif ancak HCV-RNA'sı negatif olgular, iyileşmiş veya viremisi dalgalanma gösteren olguları temsil edebilirler<sup>2</sup>. Bu hastaların altı aylık dönemlerde HCV-RNA açısından izlenmeleri gerekir.

Çalışmamızda, anti-HCV negatif olan 235 örneğin %8.5'inde HCV-RNA pozitif olarak bulunmuştur. Us ve arkadaşları<sup>4</sup> bu oranı %27.3 (15/55) olarak vermektedirler. Bu durum, HCV enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında tek başına anti-HCV testinin yeterli olmadığını ifade etmektedir. Hastalığın başlangıcından antikorların gelişmesine kadar geçen süre bazı olgularda 70 güne kadar uzayabilir<sup>10</sup>. Ayrıca hastaların immün sistemindeki değişikliklere bağlı olarak, antikor oluşumunun daha da gecikmesi ya da hiç oluşmaması söz konusu olabilir<sup>11</sup>. Bu nedenle HCV enfeksiyonu olasılığı yüksek olgularda, anti-HCV negatif bulunsan bile HCV-RNA mutlaka araştırılmalıdır. Sönmez ve arkadaşları<sup>12</sup>, 376 donörde yaptıkları çalışmada, anti-HCV negatif bulunan 164 serumun %3.6'sında HCV-RNA'yı pozitif bulmuşlardır. Forcic ve arkadaşları<sup>13</sup> ise, 2718 anti-HCV negatif donörü HCV-RNA açısından değerlendirmiş ve %2.1 oranında HCV-RNA pozitifliği saptamışlardır<sup>13</sup>. Donör gibi sağlıklı bireylerde bile önemli sayılabilecek oranlarda tek başına HCV-RNA pozitifliğinin yakalanıyor olması, HCV enfeksiyonlarında moleküler testlerin önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda, anti-HCV negatif 235 hastanın %91.5'inde HCV-RNA da negatif olarak bulunmuştur. Bu grup, viremisi ve/veya antikor yanıtı olmayan ya da HCV ile hiç karşılaşmamış olan bireyleri içermektedir. Ancak Castillo ve arkadaşları<sup>11</sup>, serumda anti-HCV ve HCV-RNA'nın negatif bulunduğu, buna karşın karaciğerde HCV-RNA'nın saptandığı gizli (occult) HCV enfeksiyonlarından bahsetmektedirler<sup>11</sup>. Bu bilgi de HCV-RNA açısından negatif bulunan hastalarda aktif HCV enfeksiyonunun tam olarak ekarte edilemeyeceğini göstermektedir.

Araştırmamızda, anti-HCV ve/veya HCV-RNA pozitifliği olan 475 örneğin %51.6'sında karaciğer enzimlerinden en az biri yüksek, %48.4'ünde ise normal olarak bulunmuştur. Akut HCV enfeksiyonunda ALT artışı çok fazla olmayabilir. Kronik HCV enfeksiyonunda da sessiz dönemde ALT değerleri normal veya normale çok yakın olabilir. Bu nedenle normal ALT düzeyleri kronik HCV enfeksiyonlarını dışlayamaz<sup>14</sup>. Ayrıca serum ALT düzeyi, hepatit C'ye bağlı kronik karaciğer hastalığının şiddeti ile yakından ilişkili olmayabilir. Zira biyopsi ile doğrulanmış hepatit C'ye bağlı ağır karaciğer hastalığı olanlarda bile normal

ya da normale yakın ALT düzeyleri saptanmıştır<sup>9</sup>. Kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda serum HCV-RNA'sı ve ALT düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran pek çok çalışma birbiriyle çelişen sonuçlar vermiştir<sup>15</sup>. Serumda HCV-RNA saptanmasına rağmen, hepatit C'ye bağlı kronik hepatit gelişen hastaların yaklaşık %30'unda ALT düzeyleri normal olarak seyretmiştir<sup>16,17</sup>.

Yapılan bir çalışmada, HCV-RNA pozitif 78 hastanın %41'inde ALT düzeyi normal, %59'unda ise yüksek olarak bulunmuştur<sup>18</sup>. Sönmez ve arkadaşları<sup>7</sup> da, HCV-RNA pozitif olguların %71'inde ALT, %68'inde AST düzeylerini yüksek bulmuşlardır. HCV-RNA'sı pozitif bazı olgularda ALT düzeylerinin normal seyredebileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur<sup>19</sup>. Çalışmamızda, incelenen 690 örneğin %51'inde ALT ve/veya AST yüksekliği belirlenmiş, bunların %30.4'ünde HCV belirleyicilerinin negatif olduğu izlenmiştir. Enzimleri yüksek ancak HCV yönünden negatif olan bu örnekler diğer karaciğer patolojileri varlığı yönünden sorgulanamamışlardır. Araştırmamızda, anti-HCV ve HCV-RNA birlikte pozitif olan 235 örneğin %58.3'ünde ALT ve AST yüksekliği birlikte tespit edilmiş; bu olguların karaciğer hasarı ile seyreden hepatit C enfeksiyonlu hasta grubu olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında giderek artan kullanım alanı bulan moleküler testlerin; süreç-patogenez-tedavi açısından hala bilinmeyenlerin fazla olduğu HCV enfeksiyonu tanısındaki uygulamalarının, yüksek sayıdaki serum örneğindeki sonuçların dökümü ve irdelenmesi yapılarak bilgi ve deneyim paylaşımı amaçlanmıştır. Çalışma sonuçlarından da görüleceği üzere anti-HCV'si pozitif olan bazı olgularda HCV-RNA'nın negatif olabileceği, tam tersine anti-HCV'si negatif olanlarda da bazen HCV-RNA pozitifliğinin gösterilebildiği ve hepatit C'ye bağlı enfeksiyonda karaciğer enzimlerinin yarıya yakın olguda normal değerlerde seyredebileceği görülmüştür. Bu nedenle hepatit C enfeksiyonlu hastalarının takibinde, sıkı bir klinisyen-laboratuvar işbirliği, güvenilir testler ve testlerin yorumunda bu hususların göz önüne alınmasının gerekliliği ortadadır.

#### KAYNAKLAR

1. Hanuka N, Sikuler E, Tovbin D, et al. Hepatitis C virus infection in renal failure patients in the absence of anti-hepatitis C virus antibodies. *J Viral Hepat* 2002; 9:141-5.
2. Gökahmetoğlu S, Aygen B, Gürsoy Ş ve ark. Anti-HCV pozitif hastalarda HCV RNA varlığının değerlendirilmesi. *Viral Hepatit Derg* 2002; 1: 444-6.
3. Türkoğlu S. HCV İnfeksiyonu: Viroloji ve Seroloji, s: 182-192. Kılıçturgay K, Badur S (ed), *Viral Hepatit* 2001. 2001, 1. baskı. *Viral Hepatitle Savaşım Derneği*, İstanbul.
4. Us T, Akgün Y, Kural M. RT-PCR ve üçüncü kuşak ELISA yöntemleri ile saptanan HCV RNA ve anti-HCV sonuçlarının karşılaştırılması. *Viral Hepatit Derg* 2001; 2: 298-301.
5. Di Biceglie AM. Hepatitis C. *Lancet* 1998; 251: 351-5.
6. Çolak D, Ögünç D, Gültekin M ve ark. Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu tanısında enzim immunoassay (EIA), immunoblot (IB) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemlerinin karşılaştırılması. *Viral Hepatit Derg* 1998; 1: 5-8.
7. Sönmez E, Kızılkaya N, Taşyaran MA ve ark. Hepatit C virusu RNA pozitifliğinin karaciğer fonksiyon testleri ile ilişkisi. *Klinik Derg* 1996; 9:44-6.

8. Freucht HH, Zöllner B, Polywka S, Laufs R. Study on reliability of commercially available hepatitis C virus antibody tests. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 620-4.
9. Lemon SM, Brown EA. Hepatitis C virus, pp: 1474-86. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 1995, 4<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone, New York.
10. el-Sayed Zaki M, el-Adrosy H. Recent approach for diagnosis of early HCV infection. *Egypt J Immunol* 2004; 11: 123-9.
11. Castillo I, Pardo M, Bartolome J, et al. Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *J Infect Dis* 2004; 189: 7-14.
12. Sönmez E, Troisi C, Hollinger FB, et al. Screening of blood donors for HCV RNA by RT-PCR. *Journal of Turgut Özal Medical Center* 1996; 3: 303-5.
13. Forcic D, Zgorelec R, Branovic K, et al. Incidence of hepatitis C virus RNA in anti-HCV negative plasma pools in Croatia. *Transfus Apher Sci* 2001; 24: 269-78.
14. Rumi MG, Colombo M, Gringeri A, Mannucci PM. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in multitransfused hemophiliacs with normal transaminase levels. *Ann Intern Med* 1990; 112: 379-80.
15. Ghany MG, Chan TM, Sanchez-Pescador R, et al. Correlation between serum HCV RNA and aminotransferase levels in patients with chronic HCV infection. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 2213-8.
16. Leone N, Rizzetto M. Natural history of hepatitis C virus infection: from chronic hepatitis to cirrhosis, to hepatocellular carcinoma. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2005; 51: 31-46.
17. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36 (Suppl 1): S21-9.
18. Alberti A, Noventa F, Benvegnú L, et al. Prevalence of liver disease in a population of asymptomatic persons with hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 2002; 137: 961-4.
19. Silini E, Bono F, Cerino A, et al. Virological features of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2913-7.