Archive of SID

خون
دوره ۳ شماره ۵ زمستان ۸۵ ویژه‌نامه (۳۹۵-۳۸۹)

شیوع TTV در اهداکنندگان خون اهواز با استفاده از Semi-nested PCR

محمدعلی جلالی‌فر[۱]، دکتر طاهره زندیه[۲]، دکتر سید جلال امام[۳]، دکتر حمید گله‌داری[۴]،
دکتر علی‌اکبر پورفتح‌اله[۵]، مهناز بابا احمدی[۶]

چکیده

سابقه و هدف

بروز عوامل عفونی جدید احتمال انتقال عفونت از طریق خون را افزایش داده و بالا بردن ایمنی خون را تهدید می‌نماید. علیرغم وجود روش‌های جدید تشخیص هپاتیت، هنوز برخی از موارد هپاتیت ناشناخته است. در سال ۱۹۹۷ ویروس DNA دار جدیدی از فرد مبتلا به هپاتیت پس از انتقال خون(Non-A-G) جداسازی شد که امروزه به نام TTV معروف است. این ویروس حلقوی تک رشته‌ای بدون پوشش و مقاوم به فرآیندهای ویروس کشی، اولین سیرکو ویروس انسانی بوده و دارای شیوع جهانی است. ویروس در ایجاد هپاتیت و آنمی آپلاستیک، نقش دارد.

مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان شیوع ویروس TT در اهداکنندگان سالم خون شهر اهواز و راه‌اندازی روش مولکولی N22 –PCR جهت مطالعات بعدی ویروس انجام شد.

مواد وروش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود و جامعه مورد مطالعه، اهداکنندگان خون از نظر هپاتیت A-C و HIV در سال ۱۳۸۲ در شهر اهواز بودند. ۲۵۳ اهداکننده خون که آزمون‌های سرولوژیک هپاتیت‌های A-C و HIV-Ab آن‌ها منفی بود، از نظر وجود TTV DNA در پلاسما به روش PCR و با استفاده از آغازگرهای Okamoto مورد مطالعه قرار گرفتند. یافته‌ها توسط آزمون‌های کای دو(Chi- square) و دقیق فیشر و نرم‌افزار آماری SPSS ۱۱/۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

مطابق یافته‌های این تحقیق شیوع TTV در میان اهداکنندگان خون اهواز در سال ۱۳۸۲، ۲۳/۷٪(۶۰/۲۵۳) بود و تفاوت معنی‌داری میان شیوع ویروس و متغیرهای زمینه‌ای یافت نشد.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق در مقایسه با کشورهای همسایه، شیوع یکسان TTV را نشان می‌دهد ولی در مقایسه با شیوع TTV در بیماران تالاسمی که هم‌زمان با این مطالعه انجام شده، تفاوت معنی‌دار است(۵۶/۷٪). این امر اهمیت انتقال خون را در گسترش ویروس نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: TTV، اهداکنندگان خون ، ایران، انتقال خون، PCR

تاریخ دریافت : ۸۴/۱۱/۱۸
تاریخ پذیرش : ۸۶/ ۱/۲۶

۱- مولف مسؤول: کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای آموزشی اهواز ـ امانیه ـ خیابان فلسطین کدپستی: ۶۱۳۳۶-۳۳۳۷۱
۲- PhD فرآورده‌های بیولوژیک ـ دانشیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- PhD هماتولوژی ـ استادیار هماتولوژی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز
۴- PhD بیولوژی سلولی و مولکولی ـ دانشیار مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و علوم زیستی دانشگاه شهید چمران اهواز
۵- PhD ایمونولوژی ـ استاد دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۶- کارشناس ارشد هماتولوژی ـ مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی اهواز

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بروز عوامل جدید بیماری‌زا موجب نگرانی پزشکان و بیماران و هم‌چنین به خطر افتادن سلامت خون شده است. این امر به ویژه در مورد بیماران وابسته به تزریق خون از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اگر چه با کشف هپاتیت B و C، علت اکثر هپاتیت‌های پس از تزریق خون مشخص شده، اما هنوز هم ۱۵-۱۰ درصد از موارد هپاتیت‌های قابل انتقال از راه تزریقی و ۴٪ از موارد هپاتیت حاد اکتسابی از جامعه علت معینی ندارند(۲، ۱).

در راستای یافتن علت برخی از این هپاتیت‌ها، نی‌شی‌زاوا و همکاران در سال ۱۹۹۷ در بررسی ۵ بیمار هپاتیتی، ویروس DNA دار حلقوی تک رشته‌ای را در ۳ بیمار مبتلا به هپاتیت Non A-E پس از انتقال خون و همراه با ALT افزایش یافته جداسازی نمودند(۳). وی این ویروس را بر اساس نام اولین بیمار(Torque Teno (TTV Virus نام‌گذاری نمود. ویروس در زیر میکروسکوپ الکترونی ۳۲-۳۰ نانومتر قطر داشته و فاقد پوشش لیپیدی خارجی است و به فرآیندهای ویروس کشی رایج در صنعت پالایش پلاسما مقاوم می‌باشد(۶-۴).

این ویروس اولین سیرکو ویروس انسانی شناخته شده می‌باشد، گر چه به دلیل وجود اختلافاتی میان برخی از خصوصیات TTV با اعضای سیرکو ویروس‌ها، طبقه‌بندی مختلفی برای این ویروس عنوان شده است. گروهی آن را در Paracircoviridae، برخی دیگر آن را عضو Circinoviridae و دیگران آن را در یک خانواده جداگانه به نام TTV طبقه‌بندی نموده‌اند(۱۰-۵).

تنوع توالی در TTV بسیار جالب و منحصر به فرد می‌باشد. به طوری‌که با وجود گذشت مدت کوتاهی از کشف ویروس، ۳۸ ژنوتیپ از ویروس کشف شده که آن‌ها را در ۵ گروه قرار می‌دهند(۱۵-۱۱).

این ویروس‌ها را در ایجاد هپاتیت، برونکوپنومونی، ترومبوسیتوپنی، بیماری‌های عروقی، فیبروز ایدیوپاتیک ریوی و آنمی آپلاستیک دخیل دانسته‌اند(۲۱-۱۶). TTV در میان انواع جمعیت‌های انسانی گسترش فراوانی دارد. این شیوع بسته به جمعیت مورد مطالعه و منطقه جغرافیایی از ۱/۲٪ در انگلستان تا بیش از ۸۰٪ در گامبیا گسترده شده است(۲۳، ۲۲). به دلیل احتمال وجود ارتباط میان ویروس با برخی از بیماری‌های هماتولوژیک، گستردگی فراوان جمعیت‌های وابسته به تزریق خون و شناخت نقش بیماری‌زایی ویروس، این مطالعه به منظور تعیین میزان شیوع ویروس در اهداکنندگان خون در شهر اهواز و در سال ۸۳-۸۲ انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی مقطعی بود و جامعه مورد بررسی اهداکنندگان خون مراجعه کننده به پایگاه ثابت شهر اهواز در سال ۱۳۸۲ بودند. ۲۵۳ اهداکننده خون به شیوه غیر تصادفی با نمونه‌برداری ساده مورد بررسی قرار گرفتند و نمونه‌های انتخاب شده از نظر Anti-HIV، HBsAg و Anti-HCV منفی بودند(۲۱ زن، ۲۳۲ مرد، حداقل سن ۱۷ و حداکثر ۵۶ سال، ۱۵۵ نفر اهداکننده جایگزین و ۹۸ نفر داوطلب). داده‌های آماری با استفاده از آزمون دقیق فیشر و کای‌دو با بهره‌گیری از برنامه نرم‌افزاری SPSS ۱۱/۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. از هر اهداکننده ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های EDTAدار جمع‌آوری شده و پس از سانتریفوژ پلاسما در میکروتیوب‌های ۵ میلی‌لیتری جهت آزمایش‌های سرولوژیک و مولکولی جداسازی شده و در ۸۰°C- نگهداری شدند.

روش‌های سرولوژیک:

بر روی نمونه‌ها آزمایش HCV-Ab(اوسینا ـ روسیه)، HBs-Ag (بیوراد) و HIV-Ab(بیوراد) بر اساس روش ایمونواسی آنزیمی و بر طبق مندرجات کیت شرکت سازنده انجام شد.

نمونه‌های واکنش پذیر که در سطح برشی cut-off و یا بالاتر از آن قرار می‌گرفتند از مطالعه حذف شدند.

روش مولکولی:

جهت استخراج از کیت تجاری رُوش(دیاگنوستیکا) استفاده شد. در این روش با استفاده از ۲۰۰ میکرولیتر پلاسما عمل استخراج ژنوم ویروس بر اساس مندرجات کیت انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

روش مورد استفاده جهت تکثیر(Amplification) Semi-nested PCR می‌باشد. در این روش سه آغازگر در دو مرحله تکثیر به کار می‌رود. حساسیت بسیار بالای روش و حذف مهارکننده‌ها به دلیل رقیق شدن از مزایای این روش است.

آغازگرهای مورد استفاده در دور اول برای شناسایی ویروس TTV، آغازگرهای Okamoto(N22) از منطقه ORF1 بوده که در تحقیقات اپیدمیولوژیک اولیه به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است (NG059, NG063). آغازگرهای مورد استفاده در دور دوم ناحیه درونی‌تر(NG063، NG061) ژنوم ویروس را مورد تکثیر قرار می‌دهند.

محصول تکثیر با استفاده از آغازگرهای مرحله اول 286bp و مرحله دوم 271bp به دست آمد. آغازگرها و بافرهای مورد استفاده به صورت ویال‌های آماده مصرف Master mix، Super Mix I,II، از بخش کیت سازی سازمان انتقال خون ایران تهیه شد.

برای نمونه کنترل منفی از آب مقطر یا بافر الوشن مورد استفاده در استخراج و برای کنترل مثبت از نمونه ارسالی که TTV مثبت بود، استفاده شد. پس از توزیع مواد فوق از دستگاه ترمال سایکلر(Techne) با برنامه‌های زیر استفاده شد: ۹ دقیقه ۹۵°C یک سیکل برنامه، ۳۰ ثانیه ۹۴°C واسرشتگی، ۳۰ ثانیه ۵۸°C زمان چسبندگی و ۴۵ ثانیه زمان بسط(۳۵ سیکل) و در نهایت ۷ دقیقه ۷۲°C برای بسط نهایی.

در مرحله دوم با محصولات دور اول و از همان بافرها و مواد برای تکثیر نهایی با برنامه دور اول در دستگاه ترمال سایکلر استفاده شد. آنزیم به کار رفته از شرکت سیناژن بوده و فاقد خاصیت اگزونوکلئازی بود.

در پایان محصولات دور دوم به مدت ۱ ساعت در ولتاژ ۸۰ ولت روی ژل ۲٪ آگازر الکتروفورز شدند. پس از پایان در دستگاه ترانس ایلومیناتور(UV Tec به وسیله اشعه UV) باندهای ایجاد شده آشکار شده، به همراه نمونه‌های کنترل منفی و مثبت و سایز مارکر، صد جفت بازی الکتروفورز شدند. وجود باند ۲۷۱bp در الکتروفورز نشان‌دهنده وجود TTV بود.

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۰ اهداکننده از ۲۵۳ اهداکننده خون مورد بررسی، TTV مثبت بودند. میزان شیوع کلی ۲۳/۷٪به دست آمد. میزان شیوع ویروس در گروه سنی ۳۰-۲۵ سال ۱۴٪ کم‌ترین و در گروه ۴۰-۳۵ سال ۲۹/۴٪ بیشترین شیوع را داشت، شیوع ویروس در گروه‌های سنی مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد(جدول ۱).

جدول ۱: میزان شیوع ویروس در جمعیت اهداکنندگان اهواز سال ۸۲

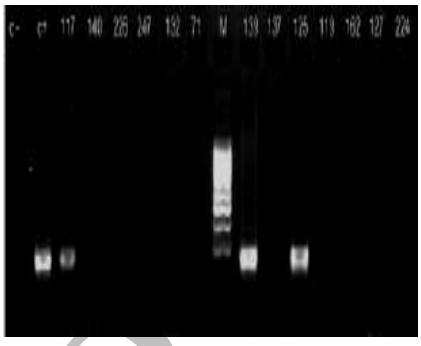
متغیر		TTV DNA	
		منفی	مثبت
وضعیت	مجرد	۶۴	۱۶
	متاهل	۱۲۸	۴۲
سفر	خیر	۱۶۲	۴۳
	بلی	۳۰	۱۵
سن	<۲۵	۴۷	۱۷
	۲۵-۲۹	۴۳	۷
	۳۰-۳۴	۳۷	۱۱
	۳۵-۳۹	۲۴	۱۰
	۴۰-۴۴	۲۳	۸
	۴۵-۴۹	۱۱	۴
	>۵۰	۸	۳
نوع اهدا	جایگزین	۱۱۵	۴۰
	داوطلب	۷۸	۲۰
جنس	مؤنث	۱۶	۵
	مذکر	۱۷۷	۵۵

میزان شیوع در میان اهداکنندگان داوطلب خون ۲۰/۶٪ و در اهداکنندگان جایگزین خون ۲۵/۸٪ بود که اگر چه در اهداکنندگان جایگزین میزان شیوع بالاتر بود اما تفاوت معنی‌دار نبود. در میان کسانی که سابقه سفر به کشورهای خارجی را داشتند شیوع ویروس ۳۳٪ به دست آمد.

تصویر ۱ الکتروفورز نمونه‌ها را در مقایسه با سایز مارکر و کنترل مثبت و منفی نشان می‌دهد سایز مارکر به کار رفته ۱۰۰ bp بود.

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۱: الکتروفورز نمونه‌های اهداکنندگان خون(کنترل مثبت =C+، کنترل منفی=C-، سایز مارکر=M، شماره= نمونه‌های اهداکنندگان خون)

بحث

در مطالعه نی‌شی‌زاوا و همکاران که منجر به کشف ویروس شد، این ویروس DNA دار جدید از سرم فرد مبتلا به هپاتیت پس از انتقال خون جدا شد(۳). پس از آن تحقیقات گسترده‌ای در مورد شیوع ویروس در مناطق مختلف جغرافیایی و نیز جمعیت‌های مختلف صورت گرفت.

میزان شیوع ویروس در ژاپن ۱۹٪، گامبیا ۸۶٪، برزیل ۲۰٪، ایتالیا ۲۲٪، سودان ۷٪ و در کشورهای همسایه و آسیایی هم‌چون عربستان ۱۹٪، پاکستان ۱۶٪، نپال ۸۲٪، مصر ۸۵٪ و بولیوی ۸۲٪ گزارش شده است. در جمهوری چک میزان شیوع ویروس در اهداکنندگان خون ۱۳/۵٪ بود. به طور کلی در مطالعات انجام شده میزان شیوع ویروس در آمریکا کم، در آسیا بینابینی و در آفریقا بالا بود. این نتایج اثر منطقه جغرافیایی را در شیوع ویروس نشان می‌دهد. در مطالعه انجام شده توسط دکتر زندیه و همکاران، میزان شیوع ویروس در اهداکنندگان شهر تهران بیش از ۴۰ درصد گزارش شد(۲۴). گر چه در این مطالعه شیوع ویروس با متغیرهای زمینه‌ای ارتباط نداشت اما در برخی از این مطالعات شیوع وابسته به سن یا جنس مشاهده گردید به ویژه در مواردی که میزان شیوع ویروس در سلول‌های تک هسته‌ای بررسی شد این شیوع در سنین بالاتر از ۴۰سال در مقایسه با سنین کمتر از آن تفاوت معنی‌داری داشت(۲۸-۲۵،۱۱).

گزارش‌هایی متفاوت از میزان شیوع متفاوت ویروس در مناطق مختلف جهان و حتی در داخل همان کشورها وجود دارد که نشان می‌دهد میزان شیوع با خصوصیات ژنوم TTV مرتبط می‌باشد. بر اساس مطالعات اولیه میزان شیوع ویروس در میان افراد سالم و اهداکنندگان خون در مقایسه با افراد وابسته به تزریق خون هم چون تالاسمی‌ها و هموفیلی‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد(۳۰-۲۹، ۲۶، ۱۸، ۳). در مطالعه‌ای که هم‌زمان با این تحقیق در مورد تالاسمی‌ها در شهر اهواز انجام شد، میزان شیوع ۵۷/۲٪(۱۴۳/۲۵۰) به دست آمد که این میزان تفاوت معنی‌داری را با مطالعه حاضر نشان داده، گفته فوق را تایید می‌نماید. دو دلیل باعث شد که نظریه انتقال TTV از طریق خون مورد شک و تردید قرار گیرد، میزان فراوان ویروس حتی در کودکان و افرادی که سابقه انتقال خون نداشتند و این که TTV بدون پوشش لیپیدی بوده و در صفرا و مدفوع افراد مبتلا یافت شده است، به همین دلیل پیشنهاد شده که این ویروس هم چون هپاتیت A قابل انتقال از طریق دهانی ـ مدفوعی باشد(۳۲، ۳۱). این امر با توجه به یافتن شواهدی از بیماری‌زایی در برخی از مطالعات موجب نگرانی در خصوص سلامت عمومی گردید. در مطالعاتی مشابه قابل انتقال بودن ویروس از طریق مواد بیولوژیک چون بزاق، مایع منی و غیره ثابت شده است (۳۴، ۳۳، ۲۸). تغییر پذیری و تنوع در TTV علاوه بر کمک به ویروس در گریز از سیستم ایمنی، باعث گسترش شیوع ویروس در جوامع انسانی شده است. به طوری که در بسیاری از تحقیقات افراد چندین ژنوتیپ از این ویروس را در سرم خود دارا بودند. هم چنین ثابت شده است که ابتلا به این ویروس موجب مصونیت افراد و ریشه‌کن شدن آن نمی‌شود، به طوری که در سرم افراد دارای آنتی‌بادی ضد ویروس، DNA ویروس نیز یافت شده است. وجود ویروس در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد مبتلا و بهبود یافته و عدم وجود DNA در سرم یا پلاسمای این افراد، مخزن بودن این افراد را برای انتشار گسترده ویروس نشان می‌دهد(۱۱). ویرمی بالا، وجود راه‌های مختلف برای انتقال ویروس و ایجاد ویرمی پایدار در مبتلایان به این ویروس می‌تواند تا حدود زیادی

www.SID.ir

Archive of SID

ثابت کننده شیوع فراوان ویروس باشد. شیوع بالای ویروس در جوامع دور افتاده و در کشورهای در حال توسعه می‌تواند دلیل دیگری برای اثبات این نظر باشد. از طرف دیگر تغییر توالی این ویروس بسیار جالب و منحصر به فرد است به طوری که تاکنون ۳۸ ژنوتیپ از آن کشف شده است. این تنوع توالی به ویژه در منطقه کدکننده(Open Reading Frame (ORF قابل ملاحظه می‌باشد. ابداع سیستم‌های جدید مولکولی مثل PCR و نیز به کارگیری آغازگرهایی از منطقه غیر کدکننده موجب درک بیشتر از میزان شیوع TTV در میان جمعیت‌های مختلف شد. به علت تنوع ژنتیکی فراوان TTV، انتخاب قطعه DNA ویروسی مورد هدف برای تکثیر، اثر شدید و غیر عادی بر حساسیت آزمایش PCR داشته و این مساله حتی بسیار بیشتر از اغلب ویروس‌های دیگر می‌باشد(۳۵). مقاله مروری بندینلی و همکاران، با ارایه یک جدول مقایسه‌ای به طور آشکاری میزان تفاوت زیاد در شیوع ویروس را منعکس می‌کند به طوری که میزان شیوع در عربستان از ۱۹٪ با استفاده از آغازگرهای N22 به ۱۰۰٪ شیوع با استفاده از آغازگرهای UTR رسیده است(۲۰).

به دلیل الگو گرفتن از مطالعات اپیدمیولوژیک اولیه و این که در زمان انجام تحقیق، آغازگرهای منطقه N22 مورد استفاده گسترده بودند، تحقیق حاضر بر اساس استفاده از این آغازگرها انجام شد.

علاوه بر موارد فوق،محصولات ویروسی و هم چنین وجود مناطق بسیار متغیر، در گریز ویروس از سیستم ایمنی و پایداری عفونت نقش مهمی بازی می‌کنند(۳۶-۳۴) هم چنین ثابت شده است که ویروس در *In vitro* و در دمای ۳۷°C نیمه عمر ۵ روزه دارد(۳۶). با توجه به اهمیت سلامت اهداکنندگان خون در بهداشت عمومی، بالا بودن شیوع در اهداکنندگان سالم خون و امکان انتقال بسیار بالای این ویروس از طریق مصرف خون و فرآورده‌های خونی حتی فرآورده‌های ویروس زدایی شده، لازم است که این ویروس و ژنوتیپ‌های آن به ویژه در استان خوزستان به دلیل جمعیت بالای بیماران وابسته به خون و بالا بودن مصرف آن در استان، مورد توجه و مطالعه بیشتری قرار گیرد.

نتیجه گیری

مطالعه انجام شده شیوع نسبتاً بالایی از این ویروس را در جمعیت اهداکنندگان اهواز نشان می‌دهد. تفاوت معنی‌دار در شیوع ویروس میان افراد سالم و بیمارانی با سابقه تزریق مکرر خون و فرآورده‌های خونی، اهمیت انتقال خون را در گسترش TTV بیان می‌کند.

تشکر و تقدیر

بدین وسیله نویسندگان مقاله از همکاری آقایان دکتر پریدار، دکتر قره‌باغیان، دکتر کریمی و خانم‌ها دکتر امینی، دکتر خدیر، دکتر وفاییان و دکتر احمدی‌نژاد هم چنین پرسنل پایگاه انتقال خون اهواز به خاطر همکاری صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References:

1- Alter HJ, Bradley DW. Non A, non B hepatitis unrelated to hepatitis C virus (Non-ABC). Semen Liver Dis 1995; 15: 110-120.
2- Alter MJ, Gallagher M, Morris TT, Moyer LA, Meeks EL, Krawczynski K, *et al*. Acute non A-E hepatitis in united states and role of hepatitis G virus infection. N Engl J Med 1997; 336: 741-746.
3- Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M, *et al*. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in post transfusion hepatitis of unknown an etiology Biochem Biophys Res Commun 1997; 241: 92-97.
4- Itoh Y, Takahashi M, Fukuda M, Shibayama T, Tsuda F, Tanaka T, *et al*. Visualization of TT virus particles recovered from sera and feces of infected humans. Biochem. Biophys Res commun 2000; 279: 718-724.
5- Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, Iizuka H, Miykawa Y, Mayumi M. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with post transfusion Hepatitis of unknown an etiology. Hepatol Res 1998; 10: 1-16.
6- Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Birkenmeyer LG. Molecular and biophysical characterization of TT virus family infecting humans. Proc Natl. Acc Sci 1999; 96: 3177-3182.
7- Miyata H, Tsunoda H, Kazi A, Yamada A, Khan MA, Murakami J. *et al*. Identification of a novel CG- rice 113-nucleotide region to complete the circular, single-stranded DNA genome of TT virus, the first human circovirus. J virol 1999; 73 (5): 3582-3586.
8- Hijikata M, Takahashi K, Mishiro S, Complete circular DNA genotype of TT virus variant (isolate name SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of diversity beyond genotypes. Virology

www.SID.ir

Archive of SID

1999; 260: 17-22.
9- Takahashi M, Asabe S, Fotanda Y, Kishimoto J, Tsuda F, Okamoto H, *et al*. TT virus is distributed in various leukocyte subpopulations at distributed in various leukocyte subpopulations at distinct levels, with the highest viral load in granulocytes. Biochem Biophys Res Commun 2002; 290: 242-248.
10- Tanaka Y, Primi D, Wang RY, Umemura T, Yeo AE, Mizokami M, *et al*. genomic and molecular evolutionary analysis of newly identified infectious agent (SEN Virus) and relationship to TT Virus family. J. Infect Dis 2001; 183: 359-367.
11- Okamoto H, Nishizawsa T, Takahashi M, Asabe S, Tsuda F, Yoshikawa A, *et al*. Heterogeneous distribution of TT virus of distinct genotypes in multiple tissues from infected humans. Virology 2001; 288: 358-368.
12- Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, *et al*. Marked genomic heterogeneity and frequent mixed infection of TT virus demonstrated by PCR with primers from coding and non coding regions. Virology 1999; 259: 428-436.
13- Takahashi K, Hijkata M, Samokhvalov EI, Mishiro S. Full or near full length nucleotide sequences of TT virus variants (Type SANBAN and YONBAN) and the TT virus Like Mini Virus. Intervirology 2000; 43: 199-123.
14- Muljono DH, Nishizawa T, Tsuda F, Takahashi M, Okamoto H. Molecular epidemiology of TT virus (TTV) and characterization of two novel TTV genotypes in Indonesia. Arch. Virol 2001; 146; 1249-1266.
15- Peng Y, Nishizawa T, Takahashi M, Ishikawa T, Yoshikawa A, Okamoto H. Analysis of entire genomes of thirteen TT Virus variants classifiable into the fourth and fifth genetic groups, isolated from viremic infants. Arch. Virol 2001.
16- Ukita M, Okamoto H, Kato N, Miyakawa Y, Mayumi M. Excretion into bile of a novel unenveloped DNA Virus (TT Virus) associated with acute and chronic non A-G hepatitis. J Infect. Dis 1999; 179(5): 1245-1248.
17- Kanda Y, Tanaka Y, Kami M, Saito T, Asai T, Izutsu K, *et al*. TT Virus in bone marrow tranplant recipients. 1999; 93(8): 2485-2490.
18- Maggi F, Pifferi M, Fornai C, Andreoli E, Tempestini E, Vatteroni M, *et al*. TT Virus in the nasal secretions of children with acute respiratory disease: relations to viremia and disease severity. J Virol 2003; 77(4): 2418-2425.
19- Tokita H, Murai S, Kamitsukasa H, Yagura M, Harada H, Takahashi M, *et al*. Influence of TT Virus infection on the thrombocytopenia of patient with chronic liver disease. Hepatol. Res 2001; 20: 288-300.
20- Bendinelli M, Pistello M, Maggi F, Fornai C, Freer G, Vatteroni ML, *et al*. Molecular properties biology and clinical implications of TT virus, recently identified widespread infections agent of humans. Clin Microbiol. Rev 2001; 14(1): 98-113.
21- Bando M, Ohno S, Oshikawa K, Takahashi M, Okamoto H, Sugiyama Y. Infection of TT Virus in patient with idipahtic plumonary fibrosis. Respir. Med 2001.
22- Kikuchi K, Miyakawa H, Abe K, Kako M, Katayama K, Fukushi S, *et al*. Indirect evidence of TTV replication in bone marrow cells, not in hepatocyte, of subacute hepatitis / aplastic anemia patient. J Med Virol 2000; 61(1): 165-170.
23- Simmond P, Davidson C, Lycett C, *et al*. Detection of novel DNA Virus (TTV) in blood donors and blood products. Lancet 352: 191-195 (Erratum, 352: 1394).
۲۴- زندیه، طاهره و همکاران. شناسایی و شیوع TTV به روش PCR در پلاسمای اهداکنندگان و مصرف کنندگان خون در تهران، سال ۱۳۸۳-۱۳۸۲. فصلنامه خون دوره ۳. شماره ۲، تابستان ۸۵.
25- Prescott LE, Macdonald DM, *et al*. Sequence diversity of TT Virus in geographically dispersed human populations. J Gen Virol 1999; 80: 1751-1758.
26- Prati D, Lin YH, De Mattei C, Liu JK, Farma E, Ramaswamy L, *et al*. A prospective study on TT virus infection in Transfusion-dependent patients with β-thalassemia. Blood 1999; 95(5): 1502-1505.
27- Abe K, Inam T, Asano K, Miyoshi C, Masaki N, Hayashi S, *et al*. TT virus infection is widespread in the general populations from different Jeographic regions. J. Clin microbiology 1999; 37(8): 2703-2705.
28- Krekulova L, Rehak V, Killoran P, Madrigal N, Riley LW. Genotypic distribution of TT virus (TTV) in a Czech population: evidence for sexual transmission of the virus. J Clin virol 2001; 23: 31-41.
29- Campo N, Brizzolara R, Sinelli N, Torre F, Russo R, Deferrari G, *et al*. TT virus infeetion in haemodialysis patieats. Nephrol Dial Transplant 2000; 15: 1823-1826.
30- Dai CY, Yu ML, Chuang WL, Hou NJ, Hou C, Chen SC, *et al*. The response of hepatitis C virus and TT virus to high dose and long duration interferon-alpha therapy in naïve chronic hepatitis Cpatients. Antiviral Res 2002; 53: 9-18.
31- Okamoto H, Nishizawa T, Tawara A, Peng Y, Takahashi M, Kishimoto J, *et al*. Species-specific TT viruses and cross-speices infection in nonhuman primates. J. Virol 2000; 74(3): 1132-1139.
32- Okamoto H, Nishizawa T, Takahashi M, Tawara A, Peng Y, Kishimoto J, *et al*. Genomic and evolutionary characterization of TT virus (TTV) in tupaias and comparison with species-specific TTV s in humans and non-human primates. J Gen Virol 2001; 82: 2041-2050.
33- Yan, LL, Lou YL, Zhong XZh. Investigation of HGV and TTV infection in sera and saliva from non-hepatitis patients with oral diseases. Word J. Gastroenterol. 2002; 8(5): 857-862.
34- Peters MA, Jackson DC, Crabb BS, Browning GF. Chicken anemia virus vp_2 is a novel dual specificity protein phosphatase. J Biol chem 2002; 277(42): 39566-39573.
35- Okamoto H, Kato N, Iizuka H, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Distinct genotypes of a non enveloped DNA virus associated with post transfusion non-A to G hepatitis (TT virus) in plasma and peripheral blood mononuclear cells. J Med Virol 1999; 57: 252-258.
36- Maggi F, Pistello M, Vatteroni M, Presciuttini S, Marchi S, Isola P, Fornai C, *et al*. Dynamic of persistent TT virus infection, as determined in patient treated with alpha interferon for concomitant hepatitis C Virus infection. J virol 2001; 75(24): 11999-12004.

www.SID.ir

Archive of SID

TTV prevalence in Ahwaz blood donors by using semi-nested PCR

Jalali Far M.A.[1,2](MSc), Zandieh T.[2](PhD), Imam S.J.[3](PhD), Galehdari H.[4](PhD), Pourfathollah A.A.[5](PhD), Baba Ahmadi M.[6](MSc)

[1]RegionalEeducational Khuzestan Blood Transfusion Center
[2]Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center
[3]Jondi Shapour MedicalUuniversity, Hematology Department
[4]Research Center of Biology and Biotechnology of Chamran University
[5]Tarbiat Modarres University, Hematology Department
[6]Ahwaz Thalassemia and Hemoglobinopathy Research Center

Abstract

Background and Objectives

Occurrence of new infectious agents threatens access to zero risk in blood transfusion and enhancement of blood safety. Although sensitive methods are available for diagnosis of hepatitis, yet some hepatitis cases do not have a known etiology. In 1997, the novel DNA virus was isolated from post-transfusion serum samples of patients affected by non-A-G hepatitis. Nowadays this novel virus is known as transfusion-transmitted virus. This circular single stranded unenveloped and virucidally resistant virus is the first human circovirus and has universal distribution. It is believed that TTV may cause hepatitis and aplastic anemia. This study was conducted to determine the prevalence of TTV in healthy blood donors in Ahwaz and set up N22 PCR for subsequent first-time viral studies in south region in Iran.

Materials and Methods

In 2003, We studied the presence of TTV DNA by using Okamoto primers with PCR in plasma of blood donors in whom serologic tests for hepatitis A-C and HIV-Ab were negative.

Results

Our study showed that the virus prevalence in blood donors was 23.7% (60/253) and there was not any significant differences between prevalence of TTV and background variables.

Conclusions

Our findings showed the same prevalence rate as in neighboring countries; however, in comparison with thalassemic patients that were studied in parallel with the present research, the difference was significant (143/250; 57.3%). It shows the importance of blood transfuison in transmission of the virus.

Key words: Torque Teno Virus, Blood Donors, Iran, Blood transfusion, PCR
SJIBTO 2007; 3(5):389-395

Received: 7 Feb 2006
Accepted: 15 Apr 2007

Correspondence: Jalali Far M.A., MSc of Hematology and Blood Banking, IBTO Research Center
Postal code: 61336-33371, Felestin Avenue, Amanie, Ahwaz, Iran. Tel: (+98611) 2262740-5; Fax: (+98611) 2262760
E-mail: *alijalilfar@yahoo.com*

www.SID.ir