

# خون

فصلنامه علمی پژوهشی  
دوره ۳ شماره ۲ تابستان ۸۵ (۱۴۰۳-۱۵۳)

## شناسایی و شیوع TTV به روش PCR در پلاسمای اهداکنندگان و صرف کنندگان خون در تهران، سال ۱۳۸۲-۱۳۸۳

دکتر طاهره زندیه<sup>۱</sup>، دکتر علی اکبر پورفتح‌الله<sup>۲</sup>، دکتر صدیقه امینی کافی‌آباد<sup>۳</sup>، شهرام سمیعی<sup>۴</sup>، فهیمه رنجبر کرمانی<sup>۵</sup>،  
کامران غفاری<sup>۶</sup>، مریم سبحانی<sup>۷</sup>، مهناز کواری<sup>۸</sup>، زهرا عطایی<sup>۹</sup>

### چکیده سابقه و هدف

امروزه انتقال خون به عنوان یک درمان حیاتی، نقش مهمی در پزشکی بالینی پیدا کرده است اما این روش درمانی همیشه با خطر انتقال عوامل عفونت‌زا ویروسی مانند هپاتیت و تروروپروس‌ها همراه می‌باشد. در سالیان اخیر، تحقیقات زیادی با هدف شناسایی این عوامل صورت گرفته است. نتیجه این تحقیقات در سال ۱۹۹۷ موجب شناسایی ویروس TTV توسط نیشیزاوا گردید. هدف از انجام مطالعه با توجه به عدم وجود گزارش مشابه در ایران، بررسی و تشخیص TTV در جمعیت اهداکنندگان و صرف کنندگان خون، تهیه کیت TTV-PCR و راه‌اندازی روش کار بود.

**مواد و روش‌ها**  
مطالعه انجام شده از نوع توصیفی (Descriptive) بود. در این مطالعه، ۲۵۰ بیمار مبتلا به تالاسمی مژوز، هموفیلی و دیالیزی همراه با ۲۵۰ اهداکننده خون مراجعه کننده به سازمان انتقال خون مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA، با روش PCR Semi nested- Amplify (Amplify) پیدا کرد و سپس با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲٪، نتایج به صورت باندهای قابل روئی مشاهده گردید. اطلاعات توسط آزمون آماری کای دو (Chi-square) ارزیابی شد.

**نتایج**  
جمعیت آماری مورد مطالعه شامل ۲۵۰ بیمار بود که نتیجه آزمایش ۶۶/۹٪ از بیماران مثبت و ۳۳/۱٪ منفی بود. همچنین آزمایش TTV-PCR در ۲۵۰ اهداکننده خون به عنوان افراد سالم انجام شد و نتیجه آزمایش ۴۱٪ آن‌ها مثبت و ۵۹٪ آن‌ها منفی بود. با توجه به آزمون آماری  $\chi^2$  ارتباط معنی‌داری بین نتایج آزمایش در گروه شاهد و بیماران وجود داشت ( $p=0.0001$ ).

**نتیجه‌گیری**  
از نتایج به دست آمده می‌توان چنین استنباط نمود که TTV میزان شیوع بالایی در بین بیمارانی که خون دریافت می‌کنند و همچنین اهداکنندگان سالم خون دارد. علاوه بر این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً انتقال خون تنها راه انتقال این ویروس در جامعه انسانی نبوده و تحقیقات نشان داده که راه‌های دیگری نظری راه مدفووعی - دهانی را نیز می‌توان برای این ویروس در نظر گرفت.

**کلمات کلیدی:** TTV، اهداکنندگان خون، دریافت کنندگان خون

تاریخ دریافت: ۱۹/۶/۸۴

تاریخ پذیرش: ۲۵/۲/۸۵

- 
- مؤلف مسؤول: PhD فرآورده‌های بیولوژیک - دانشیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران - صندوق پستی ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
  - PhD ایمونولوژی - دانشیار دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - متخصص آسیب‌شناسی تشریحی و بالینی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - کارشناس ارشد بیوشیمی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - کارشناس ارشد ژنتیک - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - کارشناس ارشد میکروب شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - کارشناس ارشد میکروب شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - کارشناس زیست شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
  - کارشناس زیست شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۴۵۶

امروزه انتقال خون به عنوان یک درمان حیاتی نقش مهمی در پژوهشی بالینی پیدا کرده است اما این روش درمانی همیشه با خطر انتقال عوامل عفونت‌زا و ویروسی مانند ویروس‌های عامل هپاتیت و رترووویروس‌ها همراه بوده و با وجود پیشرفت‌های اخیر در روش‌های تشخیصی و به کارگیری روش‌های مولکولی در تشخیص عوامل عفونت‌زا، هنوز عامل تعدادی از موارد هپاتیت‌های بعد از انتقال خون ناشناخته مانده است. در سالیان اخیر، تحقیقات زیادی با هدف شناسایی این عوامل صورت پذیرفته که نتیجه این تحقیقات در سال ۱۹۹۷ موجب شناسایی ویروس TTV توسط نیشیزاوا گردید.

TTV یک ویروس DNA دار، تک رشته‌ای و بدون پوشش در انسان می‌باشد. این ویروس منحصر به فرد، ساختار ژنومیک و الگوی نسخه‌برداری ویژه‌ای دارد که تاکنون در فامیل سرکوویروس‌ها که نزدیک‌ترین فامیل به این ویروس هستند، تعیین نگردیده است. این ویروس با وجود این که DNA ویروس است ولی از نظر ژنتیکی بسیار هتروژن بوده و حداقل ۲۹ ژنوتایپ از این ویروس شناسایی شده که اخیراً به پنج گروه بزرگ فیلوژنیک طبقه‌بندی شده‌اند (۱، ۲). در رابطه با طبقه‌بندی ویروس، ضوابط حاکم مانند همان ضوابطی است که در طبقه‌بندی ویروس هپاتیت C (HCV) اعمال شده ولی به دلیل هتروژن بودن بیشتر TTV، انواعی که اختلاف توالی نوکلئوتیدی بیش از ۳۰٪ داشته باشند، ژنوتایپ و انواعی که اختلاف توالی حدود ۱۵٪ تا ۳۰٪ داشته باشند سابتایپ محسوب می‌شوند، نوع ژنتیکی TTV با گذشت زمان رو به افزایش بوده است زیرا روش‌های PCR به کار گرفته شده در بیشتر مطالعات به اندازه کافی بهینه نبوده و قادر به شناسایی تمام انواع TTV موجود در گردش خون نمی‌باشد و احتمالاً در آینده نزدیک با کوشش‌هایی که در جهت اصلاح این روش‌ها در حال انجام است، این نقص تا اندازه زیادی برطرف شده و ژنوتایپ‌های بیشتری از ویروس شناسایی خواهد شد. همچنین گزارش‌هایی منتشر شده که برخی گونه‌های حیوانی مثل پریمات‌های غیر انسانی مخزن انواعی از TTV هستند که قابل تفکیک از نوع انسانی

نمی‌باشند. در مورد نقش ویروس در ایجاد بیماری باید گفت که با وجود گذشت چندین سال از کشف ویروس، محققین تاکنون توانسته‌اند نقش پاتولوژیک مشخصی به این ویروس نسبت دهند. در ابتدای کشف ویروس از آنجایی که این ویروس برای اولین بار از بیمار مبتلا به هپاتیت با سطح بالایی از آنزیم‌های آمینوتранسفراز جدا گردید، بیشترین توجه به سوی ارتباط این ویروس با بیماری کبدی معطوف شد و تحقیقات زیادی در زمینه ارتباط این ویروس با بیماری کبدی از جمله هپاتیت‌های حاد، مزمن و برق‌آسا و همچنین بیماری کبدی کودکان انجام گرفت. ولی نتایج حاصل نقش ویروس را به عنوان یک عامل الفاکتنه و نه یک عامل سببی در ایجاد بیماری‌های کبدی نشان داده است. علاوه بر این بسیاری از عفونت‌های TTV با هپاتیت ارتباطی نداشته و در افراد گیرنده پیوند مغز استخوان (B.M.) نشان داده شده که TTV می‌تواند در سلول‌های هماتوپوئیتیک، به میزان زیادی همانندسازی کند (۳-۵).

در مطالعه‌ای که بر روی بیماران مبتلا به کانسر صورت گرفت محققین توانستند TTV-DNA را از منوکلئرهای خون محیطی و مغز استخوان این افراد به دست آورند.

نتایج برخی تحقیقات نشان داده که ژنوتایپ گروه یک (G1) ویروس TTV می‌تواند در تشدید ترومبوسیتوپنی HCV نقش داشته باشد. همچنین TTV ناشی از ویروس HCV در بیمارانی که در معرض خطر عفونت با بقیه ویروس‌های متقلله از طریق خون می‌باشند مانند هموفیلی‌ها، تالاسمی‌های مژادر، آنمی آپلاستیک، همودیالیزی‌ها، دریافت کنندگان داروهای درون رگی به میزان بالای وجود دارد (۶-۱۰).

هدف مطالعه عبارت از بررسی و تشخیص TTV در جمعیت اهداکنندگان و مصرف کنندگان خون در تهران و تعیین میزان فراوانی آن در جامعه ایران و مقایسه با کشورهای پیشرفته و جهان می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود. نمونه پلاسمای ۲۵۰ بیمار مبتلا به تالاسمی مژادر، هموفیلی و بیماران

آغازگرهای ۵'-GGC AAC ATG TTA TGG و NG063 ATA GAC TGG ۳') NG061 با روشن Semi nested- PCR یا PCR دو مرحله‌ای ناحیه مورد نظر از DNA ویروس، Amplify شده و سپس با انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲٪ نتایج به صورت باندهای قابل رویت مشاهده گردید. همراه نمونه‌ها، کترول مثبت که از مرکز تحقیقات بیمارستان طالقانی تهیه شده بود و کترول منفی (آب مقطر و یا بافر) گذاشته شد.

برنامه داده شده به دستگاه ترموسایکل شامل سه مرحله بود، مرحله اول ۹ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی گراد در یک سیکل، مرحله دوم شامل سه قسمت ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه بود که در طی مراحل سیکل تکرار گردید، و بالاخره مرحله سوم ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه در یک سیکل بود.

مرحله دوم PCR مشابه مراحل اول ولی با کاهش سیکل‌ها به ۲۵ بود. اندازه محصولات تکثیر شده در مرحله اول (bp) ۲۸۶ جفت باز و در مرحله دوم ۲۷۱ bp بود. محصولات به دست آمده از مرحله دوم با ژل آگارز با غلظت ۲٪ و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید مورد بررسی، و نتایج با دستگاه ترانس ایلومنیتور مشاهده گردید. اطلاعات توسط آزمون آماری کایدو ارزیابی شد.

## یافته‌ها

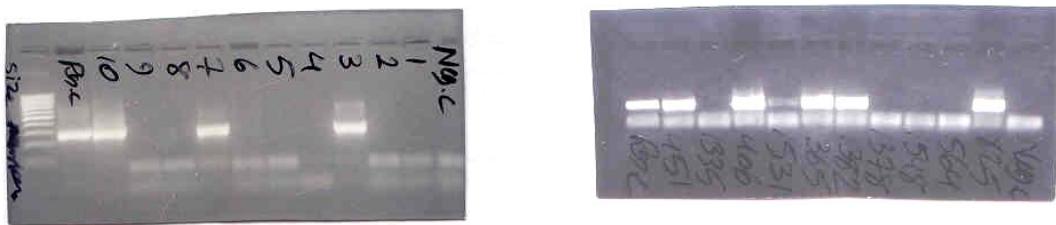
همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در نمونه‌های منفی و کترول منفی هیچ باندی مشاهده نگردید ولی در نمونه‌های مثبت و کترول مثبت باندی در محدوده ۲۷۱ bp مشاهده شد.

نتیجه آزمایش ۶۶٪ (۱۶۷ نفر) از بیماران مثبت (۶۹٪) از بیماران تالاسمی، ۷۳٪ از بیماران هموفیلی و ۷٪ از بیماران دیالیزی TTV<sup>+</sup> (بودند) و ۸۳٪ (۸۳ نفر) منفی بود و نتیجه آزمایش ۴۱٪ (۱۰۳ نفر) اهداکنندگان به عنوان کترول مثبت و ۵۹٪ (۱۴۷ نفر) آنها منفی بود (نمودار و جدول ۱). با توجه به آزمون آماری  $\chi^2$  (p=۰/۰۰۱) ارتباط معنی‌داری بین نتایج آزمایش در گروه شاهد و بیماران مشاهده شد.

دیالیزی مراجعه کننده به بخش خون‌گیری سازمان انتقال خون جمع‌آوری گردید. روش نمونه‌گیری از نوع غیر احتمالی آسان بوده و از هر بیمار ۵ میلی‌لیتر خون در شرایط استریل در یک لوله خلاً حاوی ضد انعقاد جمع‌آوری و بلا فاصله پس از جدا کردن سلول‌ها، پلاسمای در دو میکروتیوب تقسیم گردید. یکی از میکروتیوب‌ها در فریزر -۷۰ درجه سانتی گراد جهت انجام آزمایش PCR و میکروتیوب دیگر در -۳۰ درجه سانتی گراد جهت انجام آزمایش‌های سرو‌لوزیکی تا زمان انجام آزمایش‌ها، نگهداری گردید.

محدوده سنی بیماران تالاسمی بین ۲ تا ۴۴ سال بود که ۶۱٪ مذکور و ۳۹٪ مؤنث بودند و ۲۳٪ آن‌ها طحال‌برداری شده بودند. محدوده سنی بیماران هموفیلی بین ۱۰ تا ۶۴ سال بود که ۹۵٪ مذکور و ۵٪ مؤنث بودند و همه آن‌ها فرآورده‌های خونی دریافت نموده بودند. محدوده سنی بیماران دیالیزی بین ۱۷ تا ۶۸ سال بود که ۶۳٪ مذکور و ۳۷٪ مؤنث بودند و ۴۶٪ آن‌ها خون دریافت نموده بودند. هم‌زمان نمونه پلاسمای ۲۵۰ نفر اهداکننده خون که به پایگاه انتقال خون مراجعه می‌کردند به عنوان افراد سالم جمع‌آوری گردید.

DNA ویروس از نمونه پلاسمای استفاده از کیت روش کشور آلمان استخراج گردید. برای این کار تمام محلول‌ها باید شفاف بوده و در صورت مشاهده رسوب، لازم است آن‌ها در ۱۵-۲۵ درجه حرارت یا حمام آب ۳۷ درجه تا حل رسوب گرم شوند و با کمک بافر لیزکننده در حضور پروتئیناز K لیز گردند. در مرحله بعد، با کمک DNA اختصاصی به رشته‌های شیشه‌ای اتصال یافت و ناخالصی‌های دیگر مثل نمک‌ها، پروتئین‌ها و غیره شسته و حذف گردید و سپس DNA توسط بافر کم نمک از ستون جدا گردید. مراحل کار بر اساس دستورالعمل کیت بود. مرحله تکثیر قطعه مورد نظر در دو مرحله و با روش Semi nested-PCR انجام گردید(۱۱). مرحله اول با استفاده از آغازگرهای ۵'-ACA GAC AGA (sense: ۵'-ACA GAC AGA - 3') NG059 و GGA GAA GGC AAC ATG - 3' (antisense: 5'-CTG GCA TTT TAC CAT TTC CAA - T - 3') NG063 و مرحله دوم با استفاده از

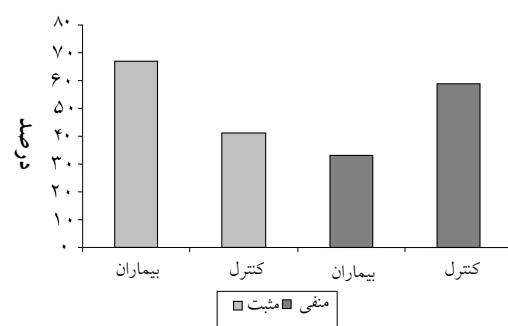


شکل ۱: باندهای مربوط به بیماران همراه کنترل مثبت و منفی و سایز مارکرپس از الکتروفورز

پلاسما مورد آزمایش قرار گرفتند. بررسی به عمل آمده نشان داد که آزمایش TTV-PCR در ۱۰۳ نفر (۴۱٪) مثبت و در ۱۴۷ نفر (۵۹٪) منفی بود.

همچنین ۱۶۷ نفر (۶۶/۸٪) از بیماران به عنوان دریافت‌کنندگان مکرر خون حامل این ویروس در خون خود بودند. با توجه به حضور میزان بالایی از عفونت TTV در افراد گیرنده خون و فرآورده‌های خونی، ضروری به نظر می‌رسد که مراکز تحقیقاتی انتقال خون با توجه به معیارهای استاندارد ارتباط ویروس جدید را با انتقال خون مورد بررسی و تحقیق قرار داده و انتقال ویروس از طریق دریافت خون و محصولات خونی یا مشتقات پلاسمایی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین قدرت بیماری‌زایی ویروس باید بررسی شود به عنوان مثال HIV و HCV قدرت بیماری‌زایی قابل توجهی دارند و به همین دلیل بررسی خون‌های اهدایی از این نظر لازم می‌باشد ولی ویروس‌هایی مثل HTLV-II بیماری‌زایی شناخته شده‌ای ندارد و غربالگری آن به علت واکنش‌های متقطع زیادی است که با ویروس HTLV-I دارد.

نکته مهم دیگر، بررسی میزان شیوع ویروس در جمعیت اهداکنندگان می‌باشد که نشان‌دهنده خطر ابتلا به عفونت در گیرنده‌گان است. از طرفی میزان پایداری ویروس در بدن میزان قابل اهمیت می‌باشد به عنوان مثال HCV در هپاتوستیت‌ها و لنفوسیت‌ها عفونت پایداری ایجاد کرده ولی سطح ویرمی در پلاسما پایین می‌باشد، ویروس‌های دیگر که عفونت ناپایدار ایجاد می‌کنند مثل هپاتیت A و پاراویروس B19 تنها در دوره کوتاهی در گردش خون حضور دارند و به علت ویرمی کوتاه مدت تنها در دوره کوتاهی قادر به انتقال از طریق خون می‌باشند. آخرین نکته مهم وجود یک روش غربالگری مناسب است.



نمودار ۱: نتایج آزمایش TTV-PCR در بیماران مورد مطالعه و دریافت‌کنندگان خون

با توجه به نتیجه آزمون آماری ۲٪ بین نتیجه آزمایش TTV-PCR و متغیر جنس و سن ارتباط معنی‌داری دیده نشد.

همچنین در این مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین نتیجه آزمایش TTV-PCR و تعداد دفعات دریافت خون وجود ندارد.

جدول ۱: نتایج آزمایش TTV-PCR در جمعیت بیماران مورد مطالعه و اهداکنندگان خون

بیماران	اهداکنندگان خون	TTV-PCR
۱۶۷(۶۶/۸)	۱۰۳(۴۱)	مثبت
۸۳(۳۳/۲)	۱۴۷(۵۹)	منفی
۲۵۰	۲۵۰	تعداد کل

### بحث

در این مطالعه ۲۵۰ نفر از اهداکنندگان خون سالم به عنوان گروه شاهد با استفاده از آغازگرهای انتخاب شده در این پژوهش از نظر حضور یا عدم حضور ژنوم TTV در

میزان شیوع TTV در بین اهداکنندگان سالم خون در تهران، همان طور که قبلاً اشاره شد ۴۱٪ می‌باشد. در کشورهای دیگر نیز با همین دسته آغازگر و با روش Semi nested، آمار متفاوتی از میزان شیوع این ویروس در جمعیت اهداکنندگان گزارش شده است. ۱۰٪ در اروپا، ۳۴٪ در کشور ژاپن، ۱۰٪ تا ۶۲٪ در آمریکای جنوبی، ۲۲٪ در ایتالیا، ۱۸٪ در مجارستان و بالاخره ۱٪ در آمریکای شمالی (۱۳-۱۷).

همان طور که ملاحظه می‌گردد این ویروس در مناطق مختلف دنیا شایع می‌باشد، از این میان آمار منتشر شده در بعضی کشورها به نتایج ما نزدیکتر بوده است در حالی که با بعضی از آن‌ها اختلاف بیشتری دارد. نکته دیگری که می‌توان به آن توجه نمود اختلاف آمار بین مناطق مختلف یک کشور می‌باشد که می‌تواند به شرایط منطقه ارتباط داشته باشد مثلاً در ژاپن بین ۱۰٪ تا ۶۰٪ گزارش شده است. این تحقیق در اهواز نیز انجام شد که درصد شیوع بین اهداکنندگان ۲۰٪ و دریافت‌کنندگان خون ۵۷٪/۲ به دست آمد (۱۸).

همان طور که ملاحظه می‌شود میزان شیوع در اهداکنندگان و دریافت‌کنندگان خون در تهران بیشتر است که احتمالاً به دلیل تجمع زیاد جمعیت و ارتباط نزدیک مردم در تهران می‌باشد که باعث آلودگی بیشتر شده است. به هر حال شیوع بالای ویرمی بین افراد سالم جامعه که هیچ سابقه‌ای از انتقال خون نداشته‌اند می‌تواند بیانگر انتقال این ویروس از راههای دیگر غیر از انتقال خون باشد. با توجه به این که ماستوبورا و همکاران توансند DNA این ویروس را از مدفوع بیمار عفونت یافته با همین ویروس ایزوله نمایند، شاید راه مدفوعی - دهانی نظیر آنچه که در مورد ویروس هپاتیت A وجود دارد نیز یکی از راههای انتقال این ویروس باشد (۱۹).

بنابراین به دلیل عدم درک کامل پاسخ‌های ایمنی ایجاد شده به واسطه حضور ویروس در بدن میزان، تاکنون آتنی‌بادی برای این ویروس شناسایی نشده و هیچ یک از مطالعات اپیدمیولوژیک انجام گرفته قادر به تخمین میزان شیوع واقعی این ویروس نبوده است. مطالعات صورت گرفته با روش PCR، بر اساس شناسایی

در رابطه با عفونت TTV تا به امروز، روش سرولوژیک مناسبی که بتواند در مقیاس وسیع کاربرد داشته باشد شناسایی نشده و به همین دلیل امکان شناسایی عفونت‌های گذشته ویروس وجود ندارد و مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته بر اساس شناسایی ژنوم ویروس به وسیله PCR است.

استخراج ژنوم ویروس از پلاسمما و تکثیر آن با روش PCR، مفیدترین روش برای شناسایی این ویروس تا به امروز بوده است. روش مورد استفاده در این پژوهش Semi nested-PCR می‌باشد که دو مرحله‌ای بودن تکثیر DNA، موجب افزایش حساسیت در شناسایی تیترهای پایین ویروس در نمونه است. همچنین به عملت رقیق شدن ممانعت کننده‌ها، DNA ویروس به خوبی تکثیر می‌شود.

آمار منتشر شده در مورد میزان شیوع TTV در بین بیماران و افراد سالم کشورهای مختلف، حکایت از انتشار جهانی این ویروس در اقسام مختلف دارد. در کشور ترکیه مطالعه انجام شده توسط ایرنسوی و همکاران در مبتلایان به تالاسمی مژوزر نشان می‌دهد که ۶۱٪ از این بیماران مبتلا به ویرمی پلاسمایی TTV می‌باشند (۱۲). با مقایسه گزارش‌ها، مشخص می‌شود که میزان شیوع TTV بیماران دریافت‌کننده خون در تهران (۶۶٪/۸) با میزان شیوع TTV هموفیلی‌های ژاپن (۷۵-۶۵٪)، تالاسمی‌های کشور ترکیه (۶۱٪) و بیماران دریافت‌کننده خون در کشور ایتالیا (۶۹٪/۱) بسیار نزدیک بوده، ولی با همودیالیزی‌های ژاپن (۵۱٪/۳) و مجارستان (۵۰٪/۴) اختلاف بیشتری نشان داده است.

به هر حال با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقات مختلف می‌توان چنین استنباط نمود که بیش از نیمی از بیمارانی که به طور مکرر خون یا فرآورده‌های خونی دریافت می‌کنند و یا سابقه‌ای از انتقال خون داشته‌اند، حامل TTV در خون خود می‌باشند.

یکی از راههای مهم انتشار این ویروس، انتقال از طریق خون یا فرآورده‌های خون است. بنا بر مطالعه گفته شده، بررسی میزان فراوانی افراد حامل این ویروس در جمعیت اهداکنندگان خون در جوامع مختلف امری منطقی و ضروری به نظر می‌رسد.

TTV مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های به دست آمده نشان داد که بین نتایج مثبت و منفی آزمایش TTV-PCR جمعیت هدف با جنسیت آن‌ها ارتباطی وجود ندارد در حالی که با سن و تعداد دفعات دریافت خون ارتباط معنی‌داری به دست آمد ( $p=0.01$ ) و ( $p=0.04$ ) و افزایش سن بیماران که با افزایش تعداد دفعات دریافت خون همراه است باعث افزایش میزان شیوع می‌شود.

**تشکر و قدردانی**  
بدین‌وسیله نویسنده‌گان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از خانم ندا پسندیده اعلام می‌دارند.

ویرمی بوده و فقط قادر به تشخیص عفونت‌های زمان حال می‌باشد. دیگر این‌که آغازگرهایی که در حال حاضر برای شناسایی این ویروس مورد استفاده قرار گرفته فقط قادر به شناسایی تعدادی از ژنتوتایپ‌های TTV بوده و با معرفی آغازگرهای بهینه شده و یا استفاده از پروتکل‌های مختلف PCR، شاهد افزایش شدیدی در میزان شیوع ویرمی با TTV خواهیم بود.

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه، زمینه کلینیکی بیماران شامل متغیرهای سن، جنس و تعداد دفعات دریافت خون با میزان شیوع

### References :

- 1- Koto T, Mizokam M, Orito T, Nakano T, Tanoka Y. High prevalence of TT virus infection Japanese patients with liver disease and in blood donors. *J Hepato* 1999; 31: 221-27.
- 2- Matsubara H, Michitaka K, Horike N. Existence of TTV DNA intra cellular body fluids from normal healthy Japanese Subjects. *J Inter virol* 2000; 43: 16-19.
- 3- Niel C. High detection rates of TTV-Like mini virus sequences in sera from Brazilian blood donors. *J Med Virol* 2001; 62: 199-205.
- 4- Vasconcelos H, Menezes M, and Niel C. TT virus infection in children and adults who visited a general hospital in the south of Brazil for routine procedure. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96(4): 519-22.
- 5- Leary T P, Erker C, Chalmers ML, Desai SM, Mushahwar I K. Optimized PCR assay for the detection of TT virus. *J Virol Methods* 1999; 82: 109-112.
- 6- Okamoto H, Nishizawa T, Tadhashi M, Asabe M, Tsuda F. Heterogeneous distribution of TT virus of distinct phenotypes in multiple tissues from infected humans. *Virlogy* 2001; 6: 358-368.
- 7- Luo K, Hiang W, He H, Yang S, Wang Y. Experimental infection of nonenveloped DNA Virus (TTV) in rhesus monkey. *J Med Virol* 2000; 61: 129-64.
- 8- Kondili LA, Pisani G, Beneduce F, Morace G, Gentili G. Prevalence of TT virus in healthy children and thalassemic Pediatric and young adult patients. *J Pediatr Gastroenterol* 2001; 35(5): 629-32.
- 9- Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated transaminase level in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 241: 92-99.
- 10- Lefrere JJ, Roudot TF, Lefrere F, Kahfer A, Maritti M. Natural history of the TT virus infection through follow-up of TTV DNA-positive multiple-transfused Patients. *Blood* 1999; 95: 347-51.
- 11- Okamura A, Yoshioka M, Kikuta H, Kubota M, Ma X. Detection of TT virus sequences in children with liver disease of unknown etiology. *J Med Virol* 2000; 62: 104-108.
- 12- Daniel P, Yu-Huei L, Claudia D M, Jen-Kuei. A prospective study on TTV virus infection in transfusion-dependent patients with b-thalassemia. *Blood* 1999; 5(1): 1502-1505.
- 13- Parquet MC, Yatsuhashi H, Koga M. Prevalence and clinical characteristics of TT virus (TTV) in patients with sporadic acute hepatitis of unknown etiology. *J. Hepatol* 1999; 31: 985-9.
- 14- Nishigurohia S, Enomoto M, Shiomi S, Tanaka M, Fnkuda K. TT virus infection patients with chronic liver disease of unknown etiology. *J Med Virol* 2000; 62: 392-98.
- 15- Concejos H, Menezes ME, Niel C. TTV virus infection in children & adults who visited a general hospital in the south of Brazil for routine procedure. *Mem inst oswaldo Mem inst oswaldo cruz, Rio de Janeiro* 2001; 96: 519-522.
- 16- Masia G, Ingarmi A, Demelia L, Faa G, Manconi PE. TT virus infection in Italy prevalence and genotypes in healthy subjects, viral diseases and asymptomatic infection by prevalence and genotypes in healthy subjects, viral diseases and asymptomatic infection by parenterally transmitted viruses. *J Virol Hepatitis* 2001; 8: 384-390.
- 17- Huaang L, Jonassen TY, Hungnes O. High prevalence of TT virus-related DNA (90%) and diverse viral genotypes in norwegian blood donors. *J. Med Virl* 2001; 64: 381-386.
- 18- Zandieh T, Babaahmadi B, Pourfahoooh A, Emam J, Jalalifar MA. Transfusion transmitted virus (TTV) infection in thalassemic patients. *Iranian J Publ Health* 2005; 34 (4): 24-28.
- 19- Matsubara H, Michitaka K, Horike N. Existence of TTV DNA intra cellular body fluids from normal healthy Japanese Subjects. *J Inter virol* 2000; 43 : 16-19.

## Measurement of TTV prevalence rate by PCR method in plasma of blood donors and recipients in Tehran

Zandie T.<sup>1</sup>(PhD), Pourfathollah A.A.<sup>2</sup>(PhD), Aminikafiabad S.<sup>1</sup>(MD), Samiei Sh.<sup>1</sup>(MS), Ranjbar Kermani F.<sup>1</sup>(MS), Ghafari K.<sup>1</sup>(MS), Sobhani M.<sup>1</sup>(MS), Kovari M.<sup>1</sup>(BS), Ataei Z.<sup>1</sup>(BS)

<sup>1</sup>Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center

<sup>2</sup>Department of Hematology, Tarbiat Modarres University

### Abstract

#### Background and Objectives

Blood transfusion has a critical role in clinical practice, but there has always been a possibility for transmission of infections. A lot of research have been conducted recently to find the cause of these infections. In 1997, TTV was first found by Nishizawa. Our aim was to estimate the prevalence rate of TTV in healthy blood donors and recipients of blood components in Tehran and prepare PCR kits to detect this virus.

#### Materials and Methods

In this research, we studied the prevalence rate of TTV in 250 thalassemic, hemophilic and dialysis patients and 250 blood donors. After extraction of DNA and amplification by semi-nested polymerase chain reaction, the bonds of DNA were observed in electrophoresis with 2% gel agarose.

#### Results

250 patients were studied 66.9% of whom were positive and 33.1% negative for TTV. TTV-PCR results were also studied in 250 blood donors 41% of whom were positive and 59% negative. There was a significant difference ( $p=0.0001$ ) between patients and the control group.

#### Conclusions

TTV has a high prevalence in recipients and blood donors. Blood transfusion probably is not the only way for transmission of TTV, and other ways such as oral-fecal route can also play a role for transmission of TTV.

**Key words:** TTV, Blood donor, Blood recipient

SJIBTO 2006; 3(2): 153-160

Received: 10 Sep 2005

Accepted: 15 May 2006

Correspondence: Zandied T. PhD of Biologic Products. IBTO-Research Center  
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88601580; Fax : (+9821) 88601580  
E-mail: Zandyeh@ibto.ir