Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2011; 14(54): 87-95

High prevalence of TORQUE TENO virus in patients with hepatitis C in Shiraz: 2008-2009

Kenar Koohi A(BSc)[1], Ravanshad M(PhD)[1]*, Rasouli M(PhD)[2], Sharifi Z(PhD)[3], Falahi Sh(BSc)[4]

1- Department of Virology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2- Department of Immunology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
3- Research Center of Iranian Blood Transfusion Organization (IBTO), Tehran, Iran
4-Student Research Committee, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received 16 Jan 2010 Accepted 9 Jun 2010

Abstract

Background: TTV is the first human circoviridae that was isolated from Japanese patients with unknown hepatitis in 1997. Since then, several studies have been done on different aspects of TTV pathogenesis. The aim of this study is to determine the prevalence of TTV in patients with chronic hepatitis using two different primer sets.

Materials and Methods: In this descriptive study, blood samples from 240 patients with chronic hepatitis C at Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center were assessed in terms of the presence of TTV DNA in plasma through the nested polymerase chain reaction using two primer sets.

Results: Of the 240 patients, TTV-DNA was detected in 220 (۹۲%) patients with chronic hepatitis C using 5′-UTR primer and in 12 (5%) patients using N22 primer. According to the demographic data, there was not a significant difference between male female patients in prevalence of TTV infection.

Conclusion: The prevalence of TTV DNA in plasma samples from patients with chronic HCV by using 5′-UTR primer was high and it was congruent with studies done in other countries; however, N22 primer showed a lower prevalence of viral DNA in the samples. Overall, there was not a significant correlation between sex and the presence of viral DNA in patients. Controversial or high prevalence of this virus in HCV infected people necessitate further studies for determining the relationship between HCV and TTV infection.

Keywords: Hepatitis C virus, Prevalence, Shiraz, TTV

*Corresponding author:
Address: Department of Virology, Faculty of Medical Sciences Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: ravanshad@modares.ac.ir

مقاله پژوهشی
مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 14، شماره 1 (شماره پیاپی 54)، فروردین و اردیبهشت 1390، 95-87

شیوع ویروس تورکوتنو در بیماران مبتلا به هپاتیتC در شیراز 1388-1387

عذرا کنارکوهی[1]، دکتر مهرداد روانشاد[2]*، دکتر منوچهر رسولی[3]، دکتر زهره شریفی[4]، شهاب فلاحی[5]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد ویروس شناسی پزشکی، گروه ویروس شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
2- استادیار، دکترای ویروس شناسی پزشکی، گروه ویروس شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
3- استادیار، دکترای ایمنی شناسی، گروه ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
4- استادیار، دکترای ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون، تهران، ایران
5- دانشجوی کارشناسی ارشد ویروس شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت 88/10/26، تاریخ پذیرش 89/3/19

چکیده

زمینه و هدف: ویروس تورکوتنو اولین سیرکوویروس انسانی است که در سال 1997 در ژاپن از بیماران مبتلا به هپاتیت با عامل ناشناخته، جداسازی گردید. از آن زمان تا کنون مطالعات متعددی بر روی جنبه‌های مختلف عفونت زایی این ویروس انجام شده است. هدف مطالعه حاضر، شیوع ویروس تورکوتنو در مبتلایان به هپاتیتC شهر شیراز با استفاده از دو جفت پرایمر مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی نمونه‌های خون 240 بیمار مبتلا به هپاتیت C مزمن مراجعه کننده به مرکز تحقیقات بالینی استاد البرزی شیراز از نظر وجود DNA ویروس تورکوتنو توسط روش واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده از دو جفت پرایمر مختلف مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری کای دو تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: از تعداد240 بیمار مورد مطالعه، 220 نمونه (92درصد) به وسیله پرایمرهای ناحیه5′-UTR و 12 نمونه (5 درصد) به وسیله پرایمرهای ناحیه N22 مثبت بودند. براساس اطلاعات دموگرافیک، تفاوتی بین میزان شیوع ویروس تورکوتنو در جنس مرد و زن موجود نبود.

نتیجه گیری: شیوع ویروس تورکوتنو در بین بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن با استفاده از پرایمرهای ناحیه5′-UTR بالا بود و تقریباً با مطالعات کشورهای دیگر هم‌خوانی داشت اما با استفاده از پرایمرهای ناحیه N22 در این مطالعه شیوع پایین‌تری به دست آمد. در مجموع ارتباط معنی‌داری بین جنس با میزان شیوع ویروس وجود نداشت. شیوع بحث انگیز و یا حتی بالای ویروس در بین بیماران مبتلا به هپاتیتC ضرورت مطالعات بیشتری را در زمینه ارتباط این دو ویروس ایجاد می‌کند.

واژگان کلیدی: ویروس تورکوتنو، ویروس هپاتیت C، ایران

***نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی ،گروه ویروس شناسی پزشکی
Email: Ravanshad@modares.ac.ir

مقدمه

ویروس تورکوتنو (TORQUE TENO-TTV) از اعضای خانواده سیرکوویریده و جنس آنلوویروس، اولین سیرکو ویروس انسانی بوده است که در اواخر سال1997 توسط آقای نیشی زاوا در ژاپن از سرم 3 بیمارکه مبتلا به هپاتیت با علت نامعلوم بودند جداسازی شد(1). این ارگانیسم یک ویروس بدون پوشش با DNA تک رشته‌ای است.گمان می‌رود که این ویروس در ایجاد هپاتیت و آنمی آپلاستیک نقش دارد و گاهی این ویروس را مسئول هپاتیت ناشی از انتقال خون می‌دانند. در تشخیص این ویروس از آزمایش PCR به منظور تایید و تشخیص قطعی نمونه‌ها استفاده می‌گردد. آلودگی به این ویروس در اکثر کشورهای جهان گزارش شده است(2، 3). چگونگی توزیع ژنوتیپ‌ها در مناطق جغرافیایی جهان هنوز کاملا مشخص نیست(4). پرایمرهایی که برای UTR -´5 طراحی می‌شوند اکثر ژنوتیپ‌ها را شناسایی می‌کنند، در حالی که پرایمرهای اختصاصی N22 توان شناسایی تعداد محدودی از ژنوتیپ‌ها را دارند(2، 5). در مطالعات مختلف درصد شیوع در یک جامعه مشخص متفاوت گزارش شده است که احتمالاً یکی از دلایل آن استفاده از پرایمرهای مختلف بوده است. یکی از ویژگی‌های بر جسته ویروس تورکوتنو، تنوع ژنتیکی بسیار بالای آن است که بر همین اساس تا امروز ،به بیش از 30 ژنوتیپ طبقه‌بندی شده است. با آنالیز ناحیه N22 در ORF1 ژنوتیپ‌های زیادی از ویروس شناسایی شده‌اند که بیش از 30 درصد با هم تفاوت دارند(6، 7). راه های انتقال ویروس شامل انتقال از طریق خون، جفت و انتقال از طریق گوارش می‌باشد، علاوه بر این انتقال از راه جنسی و تنفسی هم پیشنهاد شده است(7). DNA ویروس در بزاق، اشک، مایع منی، سواپ‌های گلو، مایع مغزی - نخاعی و در چندین بافت انسان از قبیل کبد، مغز استخوان، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد آلوده وجود دارد(3، 8، 9). ویروس تورکوتنو قادر است به صورت موقت یا مزمن میزبان خود را آلوده کند اما نقش آن به عنوان یک پاتوژن انسانی هنوز مورد بحث است.به نظر می‌رسد که تنوع ژنتیکی زیاد ویروس این امکان را می‌دهد که فقط ژنوتیپی‌های معینی از ویروس بیماری‌زا باشند(8). هدف از مطالعه حاضر، تعیین میزان شیوع ویروس تورکوتنو در بین بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن با استفاده از 2 جفت پرایمر مختلف می‌باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق یک مطالعه توصیفی است که با توجه به این که ویروس تورکوتنو در ابتدا به عنوان یک ویروس احتمالی موثر در پاتوژنز هپاتیت معرفی شد، در طی سال‌های 1388-1378 بر روی نمونه‌های بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن مراجعه کننده به مرکز تحقیقات میکرب شناسی بالینی استاد البرزی شیراز که از قبل ابتلا آنها به ویروس هپاتیت C مزمن ثابت شده بود انجام شد (جدول1). قبلا مثبت بودن تمامی نمونه‌ها برای عفونت هپاتیت C با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز کمی، روش ایمنوبلات نوترکیب و الیزا تایید شده بود. بعد از خون‌گیری، پلاسمای نمونه‌ها بلافاصله در آزمایشگاه مرکز تحقیقات میکرب‌شناسی بالینی استاد البرزی شیراز جداسازی و در دمای منفی 70- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. نمونه‌های مذکور از شیراز با رعایت زنجیره سرد، به فریزر 70- درجه سانتی گراد گروه ویروس شناسی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. DNA ی ویروس از 200 میکرو لیتر پلاسما با استفاده از کیت استخراج DNA (کیت مینی دی ان آویروسی کیو آیآ آمپ، شرکت کیاژن آمریکا شماره ساخت: 52904) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. اجرای این تحقیق به تصویب کمیته ایمنی زیستی و اخلاق پزشکی دانشگاه تربیت مدرس رسید. فرم رضایت نامه برای کلیه بیماران شرکت کننده در تحقیق تهیه و جمع‌آوری گردید.

جدول 1. محدوده سنی بیماران مورد مطالعه براساس جنس

محدوده سنی افراد مورد	زن	مرد
24-14	7	31
34-24	11	72
44-34	8	37
54-44	3	49
64-54	2	20
جمع	31	209

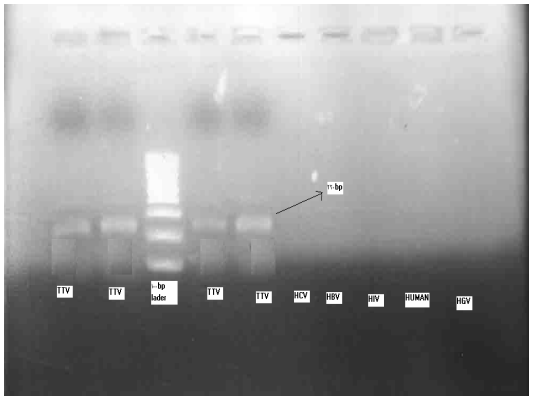
پرایمرهای انتخاب شده برای این تحقیق در جدول 2 نشان داده شده‌اند. این پرایمرها به ژن‌های UTR و ORF1 ویروس متصل می‌شوند. طول کل ژن UTR در ژنوتیپ‌های مختلف حدود 300 نوکلئوتید و طول ORF1، 2300 جفت باز است. طول محصول نهایی حاصل از تکثیر ژن UTR و ORF به ترتیب حدود 220 و270 جفت باز است. در این مطالعه از سایز مارکر (مارکر نردبانی 100bp، شرکتفرمنتاز) 100 جفت بازی استفاده شد. پرایمرهای اختصاصی، بر اساس هم ردیفی حدود 200 توالی UTR و ORF1 از پایگاه ژن بانک (GenBank) با استفاده از نرم افزار مگا 4، انتخاب شدند. علاوه برآن از توالی رفرانس موجود در ژن بانک (NC_002076.2) به عنوان توالی مرجع استفاده شد.

جدول2. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه جهت تشخیص ویروس تورکوتنو

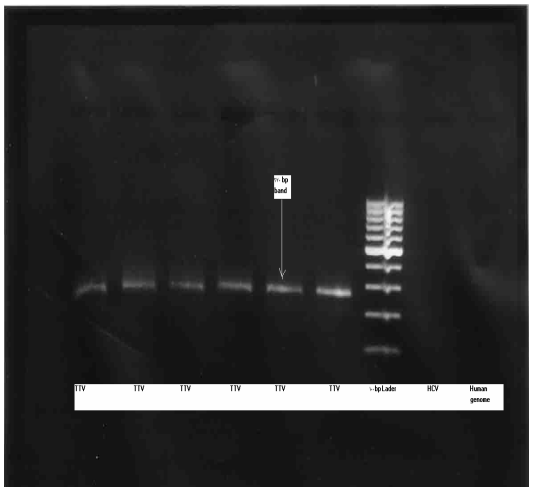
نام پرایمر	محل مورد شناسایی	توالی پرایمر
NG059	N22	5-ACA GAC AGA GGA GAA GGC AAC ATG-3
NG061	N22	5-GGC AAC ATG YTR TGG ATA GAC TGG-3
NG063	N22	5-CTG GCA TTT TAC CAT TTC CAA AGT T-3
NG 054	5´-UTR	5- TTT GCT ACG TCA CTA ACC AC – 3
NG147	5´-UTR	5 -GCC AGT CCC GAG CCC GAA TTG CC-3
NG132	5´-UTR	5-AGC CCG AAT TGC CCC TTG AC-3

روش مورد استفاده جهت تکثیرDNA ویروسی ناحیه 5´-UTR ، به صورت Semi- nested-PCR بود که با استفاده از ترکیب جدیدی از پرایمرهایNG054، NG147 وNG132 انجام گردید به این صورت که برای دور اول واکنش ازپرایمرهای NG054 و NG147 و در دور دوم واکنش از NG054 وNG132 استفاده شد، تا کنون این ترکیب از پرایمرها استفاده نشده است در این پژوهش پرایمرهای مختلف و اختصاصی ویروس بررسی گردید و پرایمرهایی با توانایی بیشتر در شناخت توالی‌های ویروس تورکوتنو را انتخاب و در کنار هم قرار داده شد. طول ژن UTR حدود 300 جفت باز و اندازه محصول تکثیر شده در دور دوم 220جفت باز بود(شکل 1).

در مرحله بهینه سازی واکنش، از آب مقطر، ژنوم منفی انسانی و ویروس‌های هپاتیت C ، G، B و ایدز به عنوان نمونه کنترل منفی و برای کنترل مثبت از 4 نمونه تائید شده ویروس تورکوتنو مثبت دریافت شده از سازمان انتقال خون، استفاده شد. پرایمرهای این پژوهش برروی نمونه‌های کنترل مثبت و منفی و نیز برای ارزیابی احتمال اتصال غیراختصاصی به ژنوم ویرس‌های هپاتیت B,C,G و ژنوم انسانی ارزیابی شدند. دیگر اجزای PCR ازقبیل MgCl2 و غلظت پرایمرها، دمای اتصال و تعداد سیکل‌های واکنش توسط چندین گرادیان واکنش ازاین اجزاء بهینه شدند(شکل 2).



شکل1. باند مثبت 220bp ژن UTR ویروس TTV و نمونه های کنترل منفی



شکل2. باند مثبت 270bp ژن N22 ویروس TTV و نمونه‌های کنترل منفی HIV و انسانی

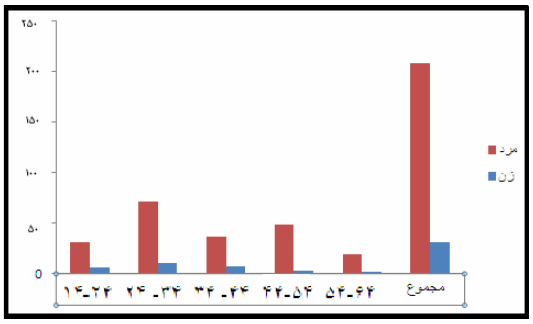
بعداز بهینه سازی واکنش، بهترین شرایط PCR در دور اول شامل 5 میکرولیتر از DNA الگو (حدود 150 نانوگرم)، 0/75میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای خارجی (از محلول 10 میکرومولار)، 5 میکرو مول dNTP mix (10mm) با غلظت نهایی 2 میکرو مولار، taqDNA پلی مراز با غلظت نهایی 4 واحد بین المللی (شرکت فرمنتاز، شماره ساخت: EP0402) یک میکرولیتر از MgCl2 10 میلی مولار شرکت فرمنتاز، شماره ساخت: R0971)، با غلظت نهایی نیم میکرو مولار، و دو و نیم میکرولیتر بافر PCR 10X با غلظت نهایی1X، (شرکت فرمنتاز،شماره ساخت: B38) مشخص گردید. شرایط دمایی مورد استفاده برای دور اول واکنش به صورت: 5 دقیقه در 95 درجه سانتی گراد برای یک دور،35 دور در 94درجه به مدت 40 ثانیه، 60 درجه به مدت 45 ثانیه و72 به مدت 50 ثانیه و در نهایت به مدت 7 دقیقه در 72 درجه سانتی گراد قرار داده شدند، برنامه مرحله دوم PCR مشابه مرحله اول بود به جز این که تعداد سیکل‌ها به 25 سیکل کاهش یافت و الگوی واکنش نیز به میزان 2 میکرولیتر از محصول مرحله اول بود.

روش مورد استفاده جهت تکثیر DNA ویروسی ناحیه N22 نیز، Semi-nested PCR بود که با استفاده ازپرایمرهای NG063، NG061 و NG059 در دو مرحله انجام شد در مرحله اول از پرایمرهای NG061 و NG059، در مرحله دوم ازNG059 و NG063 استفاده گردید اندازه محصول مرحله اول و دوم به ترتیب 286و 270 جفت باز به دست آمد. حجم مواد و بافرهای واکنش در دو مرحله مشابه واکنش برای ژن 5′-UTR، ذکر شده در بالا، بود و برنامه داده شده به دستگاه ترمال سایکلر به صورت زیر انجام شد: 7 دقیقه در 95 درجه سانتی گراد برای یک سیکل، 30 ثانیه در 94درجه سانتی گراد، 45 ثانیه در 57 درجه سانتی گراد، 50 ثانیه در 72 درجه سانتی گراد برای 30 سیکل و در نهایت 7 دقیقه در 72 درجه سانتی گراد. برنامه مرحله دوم شبیه مرحله اول می‌باشد به جز تعداد سیکل‌ها که به 25 سیکل کاهش یافت و الگوی واکنش نیز به میزان 2 میکرولیتر از محصول مرحله اول بود. در پایان محصولات دور دوم هر دو واکنش به همراه کنترل منفی و مثبت و مارکر صد جفت بازی به مدت 30دقیقه در ولتاژ 80 ولت روی ژل آگاروز 2 درصد الکتروفورز شدند، سپس ژل آگاروز به وسیله اشعه UV بررسی شد. وجود و مشاهده باند200 و 270 جفت بازی نشان دهنده وجود ویروس تورکوتنو است.

این مطالعه یک بررسی از نوع توصیفی و تجربی با روش نمونه‌گیری تصادفی می‌باشد، مجموعاً تعداد 240 نمونه آلوده به هپاتیت C به همراه اطلاعات دموگرافیک، 5 نمونه کنترل منفی انسانی و تعداد 5 نمونه از هرکدام از ویروس‌های هپاتیت B، G و ایدز مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی داده‌های حاصل از روش طراحی شده و آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS و آزمون آماری کای دو استفاده شد.

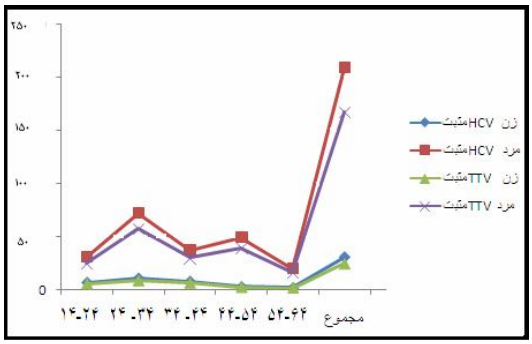
یافته ها

با بررسی اطلاعات جمعیت شناختی و نتایج آزمایشات مشخص می‌شودکه، از 240 بیمار شرکت کننده در مطالعه 209 نفر مرد و31 نفر زن بودند. میانگین سنی افراد مورد مطالعه به طور کلی 35/83 سال بود؛ که این پارامتر برای مردان وزنان مورد بررسی به ترتیب 36/1 و 33/21 سال بود. کمترین و بیشترین سن آلودگی به هپاتیت C به ترتیب 14 و 64 سال بود. بیشترین موارد آلودگی با ویروس تورکوتنو در گروه سنی 34-24 و کمترین میزان آن در گروه 65-54 سال وجود داشت. با نرمال سازی داده‌های دموگرافیک به نظر می‌رسد که میزان آلودگی با ویروس‌های هپاتیت C در زنان و مردان تقریباً مساوی است(نمودار1).



نمودار1. مقایسه تعداد مرد وزن شرکت کننده در مطالعه براساس محدوده

پس از بهینه سازی شرایط، روش طراحی شده، برروی 240 نمونه هپاتیت C مثبت، 10 نمونه کنترل منفی و ژنوم انسانی و 5 نمونه از هرکدام از ویروس‌های تورکوتنو، هپاتیت G ، C و B به منظور تعیین ویژگی‌های آنالیتیک، جهت راه اندازی روش مورد نظر انجام شد. به عنوان کنترل منفی در هر دور کاری از آب مقطر استریل، همراه با نمونه‌ها، استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌ها با استفاده از پرایمرهای 5′-UTR و N22 به ترتیب در 192 و 12 مورد از 240 نمونه مورد مطالعه باند مورد نظر مشاهده شد. در هیچ یک از نمونه‌های کنترل منفی انسانی و ویروسی هیچ باندی مشاهده نشد. در نمونه‌های مثبت باند غیر اختصاصی تشکیل نشد. با نرمال سازی داده‌ها به نظر می‌رسد که میزان آلودگی با ویروس‌های هپاتیت C و تورکوتنو در زنان و مردان مورد مطالعه دارای یک الگوی معین و همگرایی بالا است (نمودار 2).



نمودار2. مقایسه شیوع همزمان HCV و TTV در جمعیت مورد مطالعه بر حسب سن

بحث

ویروس تورکوتنو ویروسی جدیدی است که در سال 1997 توسط نیشی زاوا از یک بیمار ژاپنی مبتلا به هپاتیت با علت ناشناخته، جداسازی شد و اولین بار با افزایش سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز گزارش گردید و در آن زمان تصور می‌شد که ویروس تورکوتنو یکی از ویروس‌های عامل هپاتیت است(1، 6). پتانسیل انتقال ویروس از طریق خون و فرآورده‌های خونی و میزان بالای ویروس در کبد و همین طور جداسازی ویروس از بیماران مبتلا به هپاتیت با عامل ناشناخته، باعث ایجاد ضرورت برای بررسی شیوع این ویروس در جمعیت‌های اهداء کننده خون و افراد مبتلا به هپاتیت شده است(1، 3، 4، 10، 11).

مطالعات فیلوژنتیک نشان دادند که ژنوتیپ‌های زیادی از این ویروس وجود دارند و همچنین عفونت همزمان با چند ویروس تورکوتنو به ویژه در افراد مبتلا به تالاسمی ماژور به فراوانی گزارش شده است. که شاید یکی از دلایل بالا بودن میزان عفونت ویروس تورکوتنو در افراد مبتلا به تالاسمی ماژور، به د لیل دریافت‌های متعدد خون و فرآورده‌های خونی می‌باشد(5، 7، 10).

تنوع ژنتیکی بالای ویروس تورکوتنو یک مشکل بزرگ برای تشخیص این ویروس توسط روش PCR می‌باشد(2). برای انتخاب پرایمرهایی که توانایی شناخت حداکثر تعداد ژنوتیپ‌های این ویروس را داشته باشند باید از هم ردیف کردن تمام توالی‌های موجود در پایگاه‌های توالی استفاده کرد و پرایمرهایی را انتخاب کرد که تعداد بیشتری از ژنوتیپ‌ها را شناسایی کنند(2). اوکاموتو گزارش کرد که پرایمرهایی که ناحیه ORF1 اولین ایزوله شناسایی شده ویروس تورکوتنو (TA278)را شناسایی می‌کنند نمی‌توانند ایزوله آمریکایی TUSO1 را شناسایی کنند در صورتی که با سیستم پرایمری دیگری این ایزوله شناسایی می‌شد(1، 6، 12)، پس از آن ژنوم ویروس به عنوان ژنومی با تغییرات ژنتیکی زیاد شناسایی شد که در بین DNA ویروس‌ها این میزان تنوع ژنتیکی تا به حال مشاهده نشده است(7). بنابراین اگر نیاز به دانستن شیوع واقعی ویروس باشد باید از سیستم پرایمری که برای ناحیه حفاظت شده ویروس طراحی می‌شود استفاده کرد. اگر چه ژنوم ویروس خیلی هتروژنوس است اما ناحیه 5′-UTR که پایین‌تر از جعبه TATA قرار گرفته، در بین ژنوتیپ‌های مختلف تا حدودی حفاظت شده است، بنابر این پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش برای ناحیه 5′-UTR انتخاب شدند(2). ویروس تورکوتنو به ترتیب در ۶۲،۳۷،۲۸،۵۱،۴۲و19 درصد از اهداکنندگان خون در ایتالیا، ترکیه، چین، تایلند، ایسلند و اسکاتلند وجود دارد(8). شیوع این ویروس در بین جمعیت عمومی در ژاپن 12-35 درصد گزارش شده است(4). یک مطالعه در ژاپن

شیوع ویروس تورکوتنو را در بین دهندگان خون 12 درصد گزارش کرد در صورتی که تاکاشی بعداً شیوع حدود 92 درصد را در جمعیت ا فراد سالم گزارش کرد تفاوت این دو مطالعه در ژاپن عمدتاً در سیستم پرایمری مورد استفاده بوده است(5). با استفاده از پرایمرهای ناحیه N22، NG059 ، NG061 و NG063 درصدهای شیوع مختلفی در مناطق مختلف ایران به صورت زیر گزارش شده است، در اهداکنندگان خون تهران 66/9 درصد، در بیماران همودیالیزی و اهداکنندگان خون تبریز به ترتیب و2/7 و9/3 درصد، در بیماران تالاسمی ماژور واهداکنندگان خون اهواز به ترتیب 57/2 و 23/7 درصد و گزارش شده است(11، 13، 14). در آمریکا و ژاپن نیزبا پرایمرهای مشابه شیوع ویروس 10 درصد محاسبه شده است(15، 16) و در یک مطالعه درتهران شیوع ویروس تورکوتنو در بیماران مبتلا به هپاتیت C مزمن، 18/9 درصد با پرایمرهای ناحیه 5′-UTR گزارش شده است(8). به طور کلی به نظر می‌رسد که، شیوع آلودگی با ویروس در اهداکنندگان خون ایرانی بیشتر از اهداکنندگان خون در آمریکا (1درصد) و کشورهای اروپای غربی است آلودگی با این ویروس مشابه آلودگی اهداکنندگان خون در چین (28 درصد) اما کمتر از تایلند (37 درصد) و ایتالیا (42 درصد) است(8، 17، 18). همچنین به نظر می‌رسد که این ویروس دارای شیوع بالاتری در افراد دریافت کننده خون نسبت به دیگر انواع بیماران می‌باشد که این امر نشان دهنده اهمیت نقش انتقال خون در اپیدمیولوژی این ویروس است واحتمالاً دریافت خون آلوده را به عنوان مسیر اصلی انتقال ویروس مطرح می‌کند. بیشتر مطالعات در پی بررسی این مسئله هستند که آیا ویروس تورکوتنو با بیماری‌های کبدی ارتباط داردیا نه؟ با این وجود ویژگی‌های مولکولی و پتانسیل بیماری‌زای آن هنوز ناشناخته است مطالعات اپیدمیولوژی متعددی بیان می‌کنند که راه‌های انتقال ویروس تورکوتنو مانند ویروس‌های هپاتیت است بنابراین ویروس به فراوانی در بیماران هپاتیتی دیده می‌شود در این مطالعه 92 درصداز بیماران مبتلا به هپاتیت C دارای ویروس تورکوتنو نیز بودند که این مطالعات قبلی را که عفونت همزمان با ویروس تورکوتنو و هپاتیت C را 30 تا 88 درصد گزارش می‌کردند تایید می‌کند(19).

در مطالعه حاضر شیوع ویروس با پرایمرهای ناحیه N22 (5درصد) بسیار کمتراز شیوع ویروس با پرایمرهای ناحیه 5-UTR (92 درصد) به دست آمد که این با مطالعات دیگر، از جمله یک مطالعه در آمریکا که شیوع ویروس را در بین افراد مبتلا به هپاتیت C مزمن با پرایمرهای ناحیه N22 و 5′-UTR به ترتیب 29 و 70 درصد گزارش کرد، تقریباً هم‌خوانی دارد(15). بنابراین انتخاب ژن و قطعه از ویروس تورکوتنو برای تعیین میزان شیوع اثر قابل توجهی بر روی میزان شیوع دارد همان طور که در این مطالعه مشاهده شد میزان شیوع با استفاده از پرایمرهای ناحیه N22 از 5 درصد به 92 درصد با استفاده از پرایمرهای5′-UTR رسید در مطالعه مشابه‌ای در عربستان نیز این میزان از 19 درصد به 100 درصد رسید(20). اما میزان شیوع متفاوت در مناطق مختلف علاوه بر تفاوت در پرایمرهای استفاده شده، ممکن است مربوط به تفاوت‌های دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه مانند سن آنها و یا حضور ژنوتیپ‌های مختلف در مناطق مختلف باشد. اما از آنجا که در مطالعه حاضر تنها تفاوت در پرایمرهای مورد استفاده بود و با توجه به این که بیشترین تنوع ژنتیکی ویروس و احتمالاً فرآیند نوترکیبی در ناحیه N22 دیده می‌شود، بنابراین ژنوتیپ‌های مختلف ویروس وحتی سویه‌های درون یک ژنوتیپ هم در این ناحیه متفاوت می‌باشند و به همین دلیل برای تعیین شیوع ویروس ناحیه N22 مناسب نیست اما از آنجایی که که پرایمرهای ناحیه 5′-UTR قادر هستند همه ژنوتیپ‌ها را شناسایی کنند بنابراین برای تعیین شیوع دقیق‌تر ویروس باید از پرایمرهای ناحیه5′-UTR استفاده شود. در این مطالعه بین میزان شیوع ویروس و متغیرهای سن و جنس ارتباطی مشاهده نگردید که با تعدادی از مطالعات همخوانی دارد(13). اگر چه در برخی دیگر از مطالعات شیوع وابسته به سن یا جنس گزارش شده است(9، 11، 12، 18، 21).

نتیجه گیری

باتوجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، مشخص می‌شود که شیوع ویروس تورکوتنو در بیماران مبتلا به هپاتیت C ایرانی بالاتر ازسایر بررسی‌های صورت گرفته می‌باشد. با توجه به ماهیت ناشناخته آسیب زایی این ویروس بررسی‌های بیشتر جهت پی‌گیری عواقب آلودگی با این ویروس ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ویروس شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد. بدینوسیله از مرکز تحقیقات میکرب شناسی بالینی استاد البرزی شیراز و نیز کلیه کسانی که ما را در اجرای این پروژه، با کمک‌های علمی و معنوی خویش یاری دادند تشکر و قدر دانی می‌کنیم.

منابع

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. Biochem Biophys Res Commun. 1997 Dec; 241(1): 92-7.
2. Hu YW, Al-Moslih MI, Al Ali MT, Khameneh SR, Perkins H, Diaz-Mitoma F, et al. Molecular detection method for all known genotypes of TT virus (TTV) and TTV-like viruses in thalassemia patients and healthy individuals. J Clin Microbiol. 2005 Aug; 43(8): 3747-54.
3. Yan J, Chen LL, Lou YL, Zhong XZ. Investigation of HGV and TTV infection in sera and saliva from non-hepatitis patients with oral diseases. World J Gastroenterol. 2002 Oct; 8(5): 857-62.
4. Dai CY, Yu ML, Chuang WL, Lu SN, Wang JH, Huang JF, et al. The epidemiology of TT virus (TTV) infection in a hepatitis C and B virus hyperendemic area of southern Taiwan. Kaohsiung J Med Sci. 2000 Oct;16(10):500-9.
5. Zehender G, Manzin A, De Maddalena C, Colasante C, Solforosi L, Corsi F, et al. Molecular epidemiology of TT virus in Italy and phylogenesis of viral isolates from subjects at different risk for parenteral exposure. J Med Virol. 2001 Jan;63(1):76-84.
6. Okamoto H, Nishizawa T, Ukita M. A novel unenveloped DNA virus (TT virus) associated with acute and chronic non-A to G hepatitis. Intervirology. 1999; 42(2-3): 196-204.
7. Werno AM, Wang Z, Schroeder BA, Woodfield G, Croxson MC. Prevalence and phylogenetic characterisation of TT-virus in the blood donor population of Auckland, New Zealand. J Med Virol. 2000 Sep; 62(1):109-14.
8. Pourshams A, Azimi K, Kiani L, Sarrafi M, farhadi langeroudi m, malekzadeh r. Tt virus infection among iranian blood donors: its prevalence and relationship to serum alanine aminotransferase (alt) level. Govaresh Journal. 2004; 9(2):106-109.
9. 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 Dec; 23(1-2): 31-41.
10. Yuki N, Kato M, Masuzawa M, Ishida H, Inoue T, Tabata T, et al. Clinical implications of coinfection with a novel DNA virus (TTV) in hepatitis C virus carriers on maintenance hemodialysis. J Med Virol. 1999 Dec; 59(4): 431-6.
11. Zandieh T, Pourfath E, Amini Kafiabadi S, Samiei S, Ranjbar Kermani F, Ghafari K, et al. Measurement of ttv prevalence rate by pcr method in plasma of blood donors and recipients in tehran. Blood (khoon). 2006; 3(2): 153-60.
12. Okamoto H, Nishizawa T, Takahashi M, Asabe S, Tsuda F, Yoshikawa A. Heterogeneous distribution of TT virus of distinct genotypes in multiple tissues from infected humans. Virology. 2001 Sep; 288(2): 358-68.
13. Jalali Far M, Zandieh T, Imam S, Galehdari H, Pourfathollah A, Baba Ahmadi M. TTV prevalence in Ahwaz blood donors by using semi-nested PCR. Blood. 2007;3(Sup 5):389-95.
14. Baba Ahmadi M, Zandieh T, Poor Fathollah A, Dari.H. G, Assareh Zadegan M, Emam S, et al. A study on the prevalence of transfusion

transmitted virus by seminested-PCR among patients with Thalassemia major. Scientific Medical Journal of Ahwaz University of Medical Sciences. 2006; 4(47): 294-302.
15. Desai SM, Muerhoff AS, Leary TP, Erker JC, Simons JN, Chalmers ML, et al. Prevalence of TT virus infection in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses. J Infect Dis. 1999 May; 179(5): 1242-4.
16. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, Iizuka H, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology1. Hepatology research. 1998; 10(1): 1-16.
17. Ebrahimi Dariani N,Elahian Z, Lesan Pezeshki M, Alavian SM. Prevalence of transfusion transmitted virus in hepatitis c virus positive hemodialysis patients and its role in alt increase. Tehran University Medical Journal. 2002; 59(6):11-5.
18. Soudbakhsh A, Haji A. Transfusion transmitted virus prevalence rate in injection drug users (idus): a cross sectional study. Tehran University Medical Journal (TUMJ). 2008; 66(4): 282-7.
19. Moreno J, Moraleda G, Barcena R, Mateos M, del Campo S. Response of TT virus to IFN plus ribavirin treatment in patients with chronic hepatitis C. World J Gastroenterol. 2004 Jan;10(1):143-6.
20. Bendinelli M, Pistello M, Maggi F, Fornai C, Freer G, Vatteroni ML. Molecular properties, biology, and clinical implications of TT virus, a recently identified widespread infectious agent of humans. Clin Microbiol Rev. 2001 Jan;14(1):98-113.
21. Prescott LE, MacDonald DM, Davidson F, Mokili J, Pritchard DI, Arnot DE, et al. Sequence diversity of TT virus in geographically dispersed human populations. J Gen Virol. 1999 Jul;80 (Pt 7): 1751-8.