

输血传播病毒在非肝炎人群中的感染状况

李建国, 周元平, 姚春兰, 崇雨田, 高志良

(中山医科大学附属第三医院传染病科, 广东 广州 510630)

摘要: 【目的】调查非肝病人群中经输血传播病毒(TTV)的感染状况。【方法】在 TTV ORF₁ 保守区设计引物, 用巢式 PCR 检测 125 例医院工作人员、105 例献血员、46 例静脉透析病人、166 例性病高危人群和 83 例静脉药瘾者, 共 525 人血清中 TTV DNA。【结果】TTV DNA 阳性率, 医院工作人员 3.2%、献血员 11.4%、静脉透析病人 13.0%、性病高危人群 20.5% 和 静脉药瘾者 39.8%。【结论】静脉药瘾者、性病高危人群和静脉透析病人是 TTV 感染的高危人群。

关键词: 肝炎, 病毒性, 人/流行病学; 输血传播病毒

中图分类号: R512.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)06-0463-03

Detection of Ttransfusion Ttransmitted Virus in the People Without Liver Diseases

LI Jian-guo, ZHOU Yuan-ping, YAO Chun-lan, CHONG Yu-tian, GAO Zhi-liang

(Department of Infectious Diseases, Third Affiliated Hospital Sun Yet-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510630 China)

Abstract: 【Objective】To investigate the infection of transfusion transmitted virus (TTV) in the people without liver diseases. 【Methods】A nested polymerase chain reaction (PCR) assay was established to detect TTV DNA in the serum samples of 125 the persons working in hospitals, 105 blood donors, 46 patients with hemodialysis, 166 sexually transmitted diseases (STD) high risk population and 83 intravenous drug users (IV-DU). 【Results】The results showed that the positive rate for TTV DNA in the serum samples of the persons working in hospitals, blood donors, patients with hemodialysis, STD high risk population and IVDUs were 3.2%, 11.4%, 13.0%, 20.5% and 39.8% respectively. 【Conclusion】IVDUs, STD high risk population and the patients on hemodialysis were the high risk population for TTV infection.

Key words: hepatitis, viral, human/epidemiology; transfusion transmitted virus

输血传播病毒(TTV)是一种新发现的单链 DNA 病毒^[1]。在非甲~庚型肝炎患者和暴露于血和血制品的高危人群中检出率较高, 可经输血传播^[2]。为阐明非肝炎群体的 TTV 感染状况, 我们对医院工作人员、献血员、静脉透析病人、性病高危人群和静脉药瘾者的血清进行了 TTV DNA 检测。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

125 例医院工作人员血清采自 1998 年 9 月中 山医科大学附属第三医院职工, 其中, 男 85 例, 女 40 例, 年龄 22~60 岁, 平均(34.7±2.3)岁。105 份献血员血清于 1998 年 8 月采自广州市中心血 站。46 例血液透析者血清于 1998 年 8~12 月采 自我院血液透析中心, 其中, 男 27 例, 女 19 例, 年 龄 16~74 岁, 平均(39.0±2.1)岁。166 例性病高 危人群的血清分别于 1998 年 11 月在深圳市某妇

收稿日期: 2001-07-15

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(940231); 中山医科大学科研启动基金资助项目(98A110)

作者简介: 李建国(1964-)男, 广西柳州人, 硕士生, 主治医师

教所随机采集性错罪妇女 93 例, 年龄 15~39 岁, 平均(24.5±1.1)岁, 以及 1998 年 12 月在我院皮肤性病科门诊就诊的性病疑似者 73 例, 所有患者均有非婚性接触史或性伴有性病史, 其中, 男 64 例, 女 9 例, 年龄 20~64 岁, 平均(30.8±1.9)岁。83 例静脉药瘾者血清于 1998 年 9~11 月采自广州市某强制戒毒所的静脉吸毒者, 其中, 男 62 例, 女 21 例, 年龄 18~36 岁, 平均(27.0±1.0)岁。采用经高压灭菌处理的带盖试管, 空腹静脉抽血, 离心分离血清, 分装后-20℃以下保存。

1.2 引物及主要试剂

根据 Okamoto 等^[2]报道的 TTV 基因序列, 用 Goldkey 软件在 TTV ORF₁ 保守区设计两对套式引物, 委托中山医科大学达安基因诊断中心合成。引物序列: T1 5'-GCAGCAGCAATAGGATATGT 3', T2 5'-TGACTGTCG TAAAGCCTCTA 3', T3 5'-CATACACATGAATGCCAGGC 3', T4 5'-GTA-CTTCTTGCTGGTCAAAT 3'。T1 与 T2 为外引物, T3 与 T4 为内引物。Taq DNA 聚合酶、dNTPs 和 DNA marke 均为美国生命技术公司产品。

1.3 TTV DNA 的检测

用热变性法从 50 μL 血清标本中提取 DNA。第 1 次 PCR: 反应总体积 20 μL, 含模板 5 μL、1× 反应缓冲液和 dNTPs 各 200 μmol/L、Taq 酶 1 U, T1 和 T2 各 20 pmol, 94℃ 预变性 2 min, 然后 94℃ 40 s 55℃ 40 s 72℃ 60 s 共 35 个循环, 最后 72℃ 延伸 7 min。第 2 次 PCR: 反应总体积 20 μL, 含第 1 次 PCR 产物 3 μL、1× 反应缓冲液和 dNTPs 各 200 μmol/L、Taq 酶 1 U, T3 和 T4 各 20 pmol, 94℃ 预变性 1 min, 然后 94℃ 30 s, 55℃ 40 s, 72℃ 50 s 共 30 个循环, 最后 72℃ 延伸 7 min。取第 2 次 PCR 产物 10 μL 经 20 g/L 的琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 紫外灯下观察结果。除严格按 Kwok 防污染要求外, 每次 PCR 均设阳性和阴性对照。

1.4 统计学分析

两组间率的比较, 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 PCR 产物的电泳结果

阳性标本扩增产物 197 bp, 与预期大小一致(图 1)。



图 1 PCR 检测血清中 TTV DNA 结果的产物分析

Fig. 1 Product analysis of TTV DNA detection from serum by PCR

Lane 1: 100 bp ladder from GIBCO BRL; lane 2: positive contrast; lane 3: negative contrast; Lane 4, 5, 6, 8: positive; lane 7: negative

2.2 不同人群中 TTV 的感染状况

从结果中可见, 静脉药瘾者 TTV DNA 的阳性率最高, 医院工作人员最低。经统计分析, 静脉药瘾者的 TTV DNA 阳性率明显高于医院工作人员和献血员。性病高危人群和血液透析者中 TTV DNA 的阳性率也明显高于医院工作人员, 但与献血员比较无统计学差异(表 1)。

3 讨论

TTV 是 1997 年底由日本学者^[1]用代表性差异分析法(representation difference analysis, RDA)

表 1 不同人群 TTV 的感染状况

Table 1 The infection state of TTV in diferernt group

	Total(n)	Positive Cases(n)	χ^2 (1) ¹⁾	P (1) ¹⁾	χ^2 (2)	P (2) ²⁾
Medical staff	125	4(3.2)				
Blood donors	105	12(11.4)	5.97	< 0.05		
Hemodialysis patients	46	6(13.0)	5.92	< 0.05	0.08	> 0.05
STD high risk population	166	34(20.5)	18.75	< 0.005	3.74	> 0.05
IVDU	83	33(39.8)	49.26	< 0.005	20.43	< 0.005

1) P (1): compare with medical staff; 2) P (2): compare with blood donors

克隆鉴定的又一新的可能与肝炎相关的病毒。它是目前可引起肝炎的病原中唯一的单链 DNA 病毒,目前确定 TTV 是一个环状单负链 DNA 病毒。

日本、美国和英国等多个国家的学者^[2~5,10]在不同人群中均发现 TTV 感染者,表明 TTV 感染呈全球性分布,但各种人群中的分布情况报道有很大差异。从我们的调查结果看,健康医务人员、献血员、血液透析患者、性病高危人群和静脉药瘾者 TTV 的感染率依次为 3.2%、11.4%、13.0%、20.5%和 39.8%,而国内、外学者的多数报道在上述人群中 TTV 的感染率为 10%~70%^[2~8]。国内外的流行病学调查表明在各种肝病中 TTV 的感染率也在 25%~60%之间^[2,3,6~8],与非肝炎人群的感染率相差不大。因此对 TTV 的致病性要考虑两种可能,一是 TTV 没有致病性,二是 TTV 的致病性不高,所以感染 TTV 后不出现明显的肝炎相关表现。对于感染 TTV 后是否会引起肝炎或肝病患者重叠 TTV 感染时是否会加重肝损害,目前国内、外的研究报道中尚未能提出有说服力的证据。但近来越来越多的报道^[2,8,9]认为 TTV 是一种没有致病性的伴随病毒,由于这类报道的绝大多数资料仅为数量不多的血清学 PCR 检测结果,仅凭血清检测而缺乏肝组织学和分子病理学的检测结果是难以否定 TTV 的致病性的。

对 TTV 传播途径的研究仍存在很多看法。国外学者认为,输血及注射为主要传播途径^[2]。而从其他的研究报告^[6,7]看,非输血传播途径占有重要地位。我们的调查中静脉药瘾者的 TTV 感染率明显高于医院工作人员和献血员。性病高危人群、血液透析者和献血员的 TTV 感染率也明显高于医院工作人员,而他们三者之间无统计学差异。这提示:静脉药瘾者和性病高危人群是 TTV 感染的高危人群,注射(尤其是不洁注射或共用注射器)、性接触和输血均是传播 TTV 的重要途径,没有证据显示 TTV 感染与医疗职业有关。为预防 TTV 等经输血传播的疾病,需加强对血液制品使用的监

控,有必要采取严厉措施打击吸毒、贩毒,严禁卖淫嫖娼。

参考文献:

- [1] Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, *et al.* A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 241(1): 92.
- [2] Naoumov N V, Petrova E P, Thomas M G, *et al.* Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease [J]. *Lancet*, 1998, 352(9123): 195.
- [3] Tanaka H, Okamoto H, Luengrojjanakul P, *et al.* Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A to G hepatitis patients and health blood donors in Thailand [J]. *J Med Virol*, 1998, 56(3): 234.
- [4] Cossart Y. TTV a common virus, but pathogenic [J]. *Lancet*, 1998, 352(9123): 164.
- [5] Prescott L E, Simmonds P. Global distribution of transfusion transmitted virus [J]. *N Engl J Med*, 1998, 339(11): 776.
- [6] 孟庆华,周育森,刘德恭等. TTV 在肝炎患者中的检测及临床意义探讨 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1998, 12(2): 111.
- [7] Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, *et al.* Fecal excretion of a nonenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A-G hepatitis [J]. *Med Virol*, 1998, 56(2): 128.
- [8] Huang Y H, Wu J C, Chiang T Y, *et al.* Detection and viral nucleotide sequence analysis of transfusion-transmitted virus infection in acute fulminant and non-fulminant hepatitis [J]. *J Viral Hepat*, 2000, 7(1): 56.
- [9] Pineu P, Meddeb M, Raselli R, *et al.* Effect of TT virus infection on hepatocellular carcinoma development: results of a Euro-Asian survey [J]. *J Infect Dis* 2000, 181(3): 1138.
- [10] 彭晓谋,高志良,陈雪娟,等. 体检发现谷丙转氨酶升高人群中检出 TT 病毒 [J]. *中山医科大学学报*, 1999, 20(1): 65.

(编辑 黄小延)

·简讯·

“头盆环治疗中心”在高州市人民医院成立

中国医科大学脊髓损伤研究所田慧中教授在头盆环治疗重度脊柱弯曲方面积累了 20 余年经验,于 2001 年 8 月 20 日在高州市人民医院成立“头盆环治疗中心”。应用头盆环慢性牵引作用技术,逐渐将弯曲的脊柱撑直,解决常规器械手术无法解决的难题。欢迎各地患者前来诊治。地址:广东省高州市人民医院外科大楼 9 楼骨外科。联系人:田慧中。电话:0668-6689120,0668-6684027。