بسم الله الرحمن الرحیم

بسمه تعالی

تأییدیه اعضای هیئت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضاء هیئت داوران نسخه نهایی پایان نامه خانم **عذرا کنارکوهی** تحت عنوان « **تشخیص و آنالیز فیلو ژنتیک ویروس های TT در بین بیماران ایرانی آلوده به HCV** » را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضاء هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما			
۲- استاد مشاور			
۳- استاد ناظر			
۴- استاد ناظر			
۵- نماینده شورای			

تحصیلات تکمیلی:

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل **پایان‌نامه کارشناسی ارشد** نگارنده در رشته **ویروس شناسی** است که در سال **۱۳۸۸** در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکترمهرداد روانشاد ، مشاوره **دکتر منوچهر رسولی** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **عذرا کنارکوهی** دانشجوی رشته **ویروس شناسی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: عذرا کنار کوهی

تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد در رشته ویروس شناسی

تشخیص و آنالیز فیلو ژنتیک ویروس های TT در بین بیماران ایرانی آلوده به HCV

نگارش:
عذرا کنارکوهی

استاد راهنما:
دکتر مهرداد روانشاد

استاد مشاور:
دکتر منوچهر رسولی

بهمن ۱۳۸۸

تقدیم به :

پدر ومادرعزیزم

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که اول است و پیش از او اولی نبوده و آخر است وپس از اوآخری نباشد

در پایان این پروژه بر خود فرض می دانم که از زحمات، کمک ها و رهنمود های بی دریغ و صمیمانه استاد گرانقدر جناب آقای دکتر مهرداد روانشاد تقدیر و تشکرفراوان نمایم.

از زحمات استاد مشاور محترم آقای دکتر منوچهر رسولی کمال تشکر وسپاسگزاری را دارم.

از اساتید دوره کارشناسی ارشد خود، سرکار خانم دکتر صباحی، دکتر سلیمان جاهی و دکتر بامداد به خاطر همه ی آنچه از ایشان آموختم تشکر نمایم.

همچنین برخود فرض می دانم که افتخار همراهی با همکلاسی های عزیزم خانم باغبان، آقایان شها ب فلاحی، مهدی آجورلو و هادی رضوی را ارج نهم و از آقای فلاحی و خانم باغبان تشکر فراوان نمایم به خاطر همراهی همیشگیشان.

چکیده

سابقه و هدف: TTV اولین سیرکوویروس انسانی است که در سال ۱۹۹۷ در ژاپن از بیماران مبتلا به هپاتیت با عامل ناشناخته، جداسازی گردید. از آن زمان تا کنون مطالعات متعددی بر روی جنبه های مختلف عفونت زایی این ویروس انجام شده است. هدف مطالعه حاضر، تعیین ژنوتیپ های غالب ویروسTTV در ۲۴۰ بیمار آلوده به ویروس هپاتیتC با استفاده از توالی ناحیه 5′-UTR می باشد.

مواد وروش ها: مطالعه انجام شده از نوع توصیفی و جمعیت مورد مطالعه افراد آلوده به ویروس هپاتیت C بود که از نظر وجود DNA ویروسTTV و ژنوتیپ آن با روش PCR و با استفاده از دو جفت پرایمر برای ناحیه 5′-UTR مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته ها: در این مطالعه نمونه های ۲۴۰ بیمار مبتلا به هپاتیت C مزمن مراجعه کننده به مرکز تحقیقات بالینی استاد البرزی شیراز برای عفونت TTVمورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد،۲۲۰ نمونه (۹۲درصد) بوسیله پرایمرهای ناحیه 5′-UTR و ۱۲ نمونه(۵درصد) بوسیله پرایمرهای ناحیه N22مثبت بودند. ژنوتیپ غالب در این بررسی از نوع ژنوتیپ ۱۱ بود، اما ژنوتیپ های ۲۲، ۱۷، ۳، ۱ نیز حضور داشتند و تعدادی از توالی های بدست آمده نیز غیر قابل طبقه بندی بودند.

نتیجه گیری: شیوع ویروسTTV در بین بیماران مبتلا به هپاتیتC مزمن با استفاده از پرایمرهای ناحیه5′-UTR بالا بود و تقریبا با مطالعات کشورهای دیگر همخوانی داشت اما با استفاده از پرایمرهای ناحیه N22 در این مطالعه شیوع پایین تری به دست آمد. در مجموع ارتباط معنی داری بین سن و جنس با میزان شیوع ویروس وجود نداشت. شیوع بحث انگیز و یا حتی بالای ویروس در بین بیماران مبتلا به هپاتیتC شیراز در مقایسه با دیگر مطالعات صورت گرفته یک ضرورت برای مطالعه بیشتر را در زمینه ارتباط این دو ویروس ایجاد می کند.

کلید واژه: TTV، هپاتیت سی، ژنوتیپ، شیراز

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده ۱

۱-۱- مقدمه..... ۲

۱-۲- ویروسTTV ۴

۱-۳- طبقه بندی..... ۵

۱-۴- تغییر پذیری ژنتیکی..... ۶

۱-۵- ساختمان ژنوم..... ۷

۱-۶- ساختار ویروس..... ۸

۱-۷- خصوصیات فیزیکو شیمیایی..... ۹

۱-۸- همانند سازی..... ۹

۱-۹- نسخه برداری..... ۱۰

۱-۱۰- بیان پروتیئن‌ها..... ۱۱

۱-۱۰-۱- عملکرد پروتئین های ویروس..... ۱۲

۱-۱۱- گرایش سلولی و میزبان های ویروس..... ۱۲

۱-۱۲- وجود ویروس در حیوانات..... ۱۳

۱-۱۳- ایمنی ذاتی..... ۱۴

۱-۱۴- آنتی ژن هایTTV..... ۱۵

۱-۱۵- ایمنی شناسی ویروس..... ۱۶

۱-۱۵-۱- شیوع آنتی بادی ضد ویروس در جمعیت انسانی..... ۱۶

۱-۱۵-۲- سرعت تولید آنتی بادی در عفونت های اولیه..... ۱۶

۱-۱۵-۳- تشکیل کمپلکس های ایمنی در خون..... ۱۷

۱-۱۵-۴- ایمنی سلولی..... ۱۷

۱-۱۶- اپیدمیولوژی ۱۸
۱-۱۶-۱- شیوع ویروس ۱۸
۱-۱۶-۲- راههای انتقال ویروس ۱۹
۱-۱۷- خصوصیات بالینی و پاتوژنز ویروس ۲۰
۱-۱۷-۱- پاتوژنز ۲۰
۱-۱۷-۲- ارتباط احتمالی با بیماری های کبد ۲۱
۱-۱۷-۳- ارتباط احتمالی TTV با بیماری های تنفسی ۲۲
۱-۱۷-۴- ارتباط احتمالی TTV با اختلالات خونی ۲۳
۱-۱۷-۵- ارتباط احتمالی TTV با سرطان ۲۳
۱-۱۸- تشخیص ویروس ۲۴
۱-۱۸-۱- روش های سرولوژیک ۲۴
۱-۱۸-۲- روش های ویرولوژیک ۲۴
۱-۱۹- درمان ۲۴
۱-۲۰- عفونت همزمان ویروس با هپاتیت سی ۲۴

فصل دوم: مواد و روش‌ها ۲۶

۲-۱- اهداف ۲۷
۲-۲- طراحی پرایمرها ۲۸
۲-۳- نمونه‌ها ۲۸
۲-۴- استخراجDNA ویروسی ۲۹
۲-۴-۱- مواد وتجهیزات ۲۹
۲-۴-۲- روش کار ۲۹
۲-۵- مقدمه ای بر PCR ۳۰
۲-۵-۱- مکان مربوط به جمع آوری ، آماده سازی وتهیه سرم و پلاسما نمونه ۳۱

۲-۵-۲- فضای مورد نیاز برای استخراج ژنوم ۳۱
۲-۵-۳- مکان ویژه آماده سازی مواد واکنش‌ها ۳۲
۲-۵-۴- فضای مخصوص مشاهده و بررسی محصولات PCR ۳۲
۲-۶- مواد مورد نیاز واکنش PCR ۳۲
۲-۷- PCR آشیانه ای ۳۵
۲-۷-۱- روش کار ۳۶
۲-۷-۲- واکنش مرحله اول PCR برای ناحیه N22ویروس ۳۶
۲-۷-۳- واکنش مرحله اول PCR برای ناحیه 5'-UTRویروس TTV ۳۶
۲-۷-۴- برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای مرحله اول ۳۷
۲-۷-۵- برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای مرحله اول ناحیه ۳۷
۲-۸- آشکارسازی و بررسی محصولPCR بوسیله الکتروفورزدرژل آگاروز ۳۸
۲-۸-۱- مواد و تجهیزات ۳۸
۲-۸-۲- روش کار ۳۹
۲-۸-۳- ارسال محصولات برای تعیین توالی ۴۰
۲-۹- فیلوژنتیک و تعیین ژنوتیپ ها ۴۰
۲-۹-۱- مراحل کار در آنالیز فیلوژنتیک ۴۰
۲-۱۰- روش های اصلی برای رسم درخت فیلوژنتیک ۴۳
۲-۱۰-۱- روش هایی بر پایه فاصله تکاملی ۴۳
۲-۱۰-۲- روش هایی بر اساس کاراکتر مانندParsimony ۴۳
۲-۱۱- انواع درخت فیلوژنتیکی ۴۳
۲-۱۲- ارزیابی صحت درخت فیلوژنتیکی ۴۳
۲-۱۳- انتخاب ژن و ناحیه مناسب برای آنالیز فیلوژنتیکی ۴۴
۲-۱۴- روش neighbor-joining ۴۴

فصل سوم: نتایج و یافته‌ها ۴۷

۳-۱- انتخاب پرایمرها ۴۸

۳-۲- بهینه سازی PCR ۴۸

۳-۲-۱- گرادیان mg cl2 در راند دوم ۴۹

۳-۲-۲- بهینه سازی با تغییر فاکتور دمای اتصال پرایمر های ۴۹

۳-۲-۳- گرادیان پرایمر در راند دوم ۵۱

۳-۳- روش Nested PCR برای نواحی 5´-UTR و N22 ویروس TTV ۵۱

۳-۴- آنالیز آماری ۵۳

۳-۵- نتایج بررسی ها ۵۳

۳-۶- تعیین توالی ۵۶

۳-۷- آنالیز فیلوژنتیک ۵۶

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۵۹

۴-۱- شیوع ویروس ۶۰

۴-۲- آنالیز فیلوژنتیک ۶۲

۴-۳- پیشنهادها ۶۴

فهرست منابع و مآخذ ۶۶

چکیده انگلیسی ۸۳

فهرست جداول و نمودارها

عنوان **صفحه**

جدول۳-۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورداستفاده درمطالعه جهت تشخیص ناحیـه N22 و 5́-UTR ویروس TTV.....۴۸

نمودار۳-۱- مقایسه تعداد مرد وزن شرکت کننده در مطالعه براساس محدوده سنی و مجموع بیماران.....۵۴

نمودار۳-۲- مقایسه شیوع همزمان HCV و TTV در جمعیت مورد مطالعه بر حسب سن ۵۵

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۱-۱- ۵ گروه فیلوژنتیکی TTV ۷

شکل۱-۲- سازمان یابی ژنوم TTV ۸

شکل۱-۳- تصویر میکوسکوپ الکترونی ویروس TTV ۹

شکل۱-۴- مکانیسم احتمالی اثر عفونت مزمن آنلوویروسی در بیماری ها ۱۵

شکل۱-۵- تعدادی از فاکتورهای ایمنی موثر در کنترل عفونت آنلوویروسی ۱۸

شکل ۲-۱- ماتریکس ودرخت راهنما ۴۲

شکل ۲-۲- نمونه یک درخت بدون ریشه: با ۸ واحد تاکسونومیک مانند توالی(۸-۱)، گره های داخلی (A-F) واعداد ایتالیک نمایانگر طول شاخه ها هستند. ۴۶

شکل۳-۱- نتایج حاصل از شیب کلرید منیزیم در بهینه سازی PCR برای ژن 5́-UTR ویروس TTV: ۱- ۰/۵میلی مولار، ۲- ۱ میلی مولار، ۳- ۱/۵ میلی مولار، ۴- ۲ میلی مولار، ۵-۲/۵ میلی مولار، ۶-۳ میلی مولار، ۷-۳/۵ میلی مولار، ۸-۴ میلی مولار. Ladder 100bp ۴۹

شکل۳-۲- نتایج حاصل از شیب کلرید منیزیم در بهینه سازی PCR برای ژن N22 ویروس TTV: ۱- ۰/۵میلی مولار، ۲- ۱ میلی مولار، ۳- ۱/۵ میلی مولار، ۴- ۲ میلی مولار، ۵-۲/۵ میلی مولار، ۶-۳ میلی مولار، ۷-۳/۵ میلی مولار، ۸-۴ میلی مولار ۴۹

شکل۳-۳- گرادیان دما برای ناحیه 5́-UTR یروس TTV ۵۰

شکل۳-۴- گرادیان دما برای ناحیه N22 ویروس TTV ۵۰

شکل۳-۵- گرادیان پرایمر برای ناحیه N22 ویروس TTV ۵۱

شکل۳-۶- گرادیان پرایمر برای ناحیه 5́-UTR ویروس TTV ۵۱

شکل۳-۷- باند مثبت220bp ناحیه5´-UTR ویروس TTV و نمونه های کنترل منفی.....۵۵

شکل۳-۸- باند مثبت270bp ژن N22 ویروس TTV و نمونه های کنترل منفی HIV و انسانی ۵۵

شکل ۳-۹- آنالیز فیلوژنتیک ۳۰ ایزوله ویروسی TTV جدا شده با روش maximum parsimony.....۵۷

شکل ۳-۱۰- آنالیز فیلوژنتیک ۳۰ ایزوله ویروسی TTV جدا شده با روش اتصال مجاور ۵۸

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱- مقدمه

ویروس Torque Teno از اعضای خانواده سیرکو ویریده[1] جنس آنلوویروس[2] و اولین سیرکو ویروس انسانی بوده است که در اواخر سال۱۹۹۷ توسط آقای نیشی زاوا[3] در ژاپن از سرم ۳ بیمارکه مبتلا به هپاتیت با علت نامعلوم بودند جداسازی شد و[4] TTV نام گرفت. TTV بدون پوشش با DNA تک رشته ای است که می توان آن را یکی از علل هپاتیت به دنبال انتقال خون دانست. مطالعات سرواپیدمیولوژیک بیماری‌های منتقله از راه خون در سراسر جهان انجام می‌شودو اطلاعات حاصل از این مطالعات، نه تنها می‌تواند برآوردی از میزان انتقال این بیماری‌ها از راه خون و میزان شیوع آن در جامعه حاصل کند، بلکه تا حدودی نیز به آگاهی از وضعیت بالینی و پاتوژنز ویروس کمک می کند. در تشخیص این ویروس از آزمایش PCR[5]به منظور تائید و تشخیص قطعی نمونه ها استفاده می گردد. آلودگی به این ویروس در اکثر کشورهای جهان گزارش شده است ولی آنچه قابل توجه است تفاوت زیاد در میزان شیوع در مناطق مختلف می باشد به طوری که از ۱ تا ۹۰ درصد گزارش شده است. همچنین به نظر می رسد که این ویروس دارای شیوع بالاتری در افراد دریافت کننده خون نسبت به دیگر انواع بیماران می باشد که این امر نشان دهنده ی اهمیت نقش انتقال خون در اپیدمیولوژی این ویروس است واحتمالا دریافت خون آلوده را به عنوان مسیر اصلی انتقال ویروس مطرح می کند[۱-۲]. چگونگی توزیع ژنوتیپ‌ها در مناطق جغرافیایی جهان هنوز کاملا مشخص نیست[۳]. با آنالیز ناحیه N22در ORF1 ژنوتیپ‌های زیادی از ویروس شناسایی شده‌اند که بیش از ۳۰ درصد با هم تفاوت

1. circoviridae
2. anellovirus
3. Nishizawa
4. transfusion transmitted virus
5. Polymerase Chain Reaction

دارند[۴-۵]. پرایمرهایی که برای5́-UTR طراحی می شوند اکثر ژنوتیپ‌ها را می شناسند در حالی کـه پرایمرهای اختصاصیN22 تعداد محدودی از ژنوتیـپ هـا را شناسـایی مـی کنـد[۲, ۶]. در مطالعـات مختلف درصد شیوع حتی در یک جامعه مشخص متفاوت گزارش شده است که شـاید یکـی از دلایـل آن استفاده از پرایمرهای مختلف بوده است.

یکی از ویژگی های بر جسته ویروس، تنوع ژنتیکی بسیار بالای آن است که بر همین اساس تـا امـروز، به بیش از ۳۰ ژنوتیپ طبقه بندی شده است و ژنوتیپ های مختلف بیش از ۳۰ درصد بـا هـم تفـاوت دارند. ژنوتیپ‌های ویروسی را در ۵ گروه فیلوژنی بزرگ طبقه بندی کرده اند[۷]. مطالعات فیلـوژنتیکی بسیاری بر روی ویروس انجام شده است ولی تا کنون به یک توافق کامل درباره فیلوژنی ویروس دسـت نیافته اند. در بعضی مطالعات گفته شده است که شاید ویروس های بـا تـوالی هـای بـسیار متغییـر در نتیجه نوترکیبی هومولوگ ایجاد شده باشند و در یک مطالعه دیگر بیان شده که یک نوترکیبی ممکـن است حتی درون یک ژنوتیپ هم به میزان زیادی رخ دهـد. بـا احتمـال زیـادی آنلـوویروس هـا بـرای میلیون ها سال با میزبان های انسانی و حیوانی تکامل همزمان داشته انـد و همـین مـسئله باعـث بـه وجود آمدن ژنوتیپ های مختلف و متعدد ویروس شده است. با استفاده از اختلاف ۴۵ درصدی کـه در سطح نوکلئوتیدی بین ۵ گروه عمده فیلوژنتیکی وجود دارد انتظار می رود این ویروس ها در آینـده در یک خانواده ویروسی جدید طبقه بندی شوند. از زمان شناسایی اولین ایزولـه ویروسـی در اواخـر سـال ۱۹۹۷ تا کنون توالی های بسیاری از این ویروس ثبت شده است، طبق گزارشات موجود تا اواخر سـال ۲۰۰۸، ۲۰۰ توالی ژنومی ویروس به صورت کامل در ژن بانک[1] ثبت شده اسـت. مطالعـات فیلوژنتیـک نشان دادند که ژنوتیپ های زیادی از این ویروس وجود دارنـد و همچنـین عفونـت همزمـان بـا چنـد ویروس TTVبه فراوانی در جمعیت های مختلف مورد بررسی قرار و مشاهده قرار گرفته است.

اوکاموتو[2] ژنوتیپ ویروس را با حداقل ۷۰٪ شباهت گزارش کرد و ساب تایپ های درون یـک ژنوتیـپ باید حداقل ۸۵٪ شباهت داشته باشند[۵].

مطالعات فیلوژنتیکی اولیه بر پایه ناحیهN22 که در قـسمت مرکـزیORF1 و بـا طـول کمتـر از۲۰۰ نوکلئوتید، انجام شده است، اما به نظر می رسد نمی توان بر اساس این ناحیه طبقه بندی دقیقی انجام

1. Gene bank
2. Okamoto

داد چرا که وقایع نوترکیبی از لحاظ آماری با فراوانی بیشتری از بقیه قسمت های ژنوم در این ناحیه رخ می دهند[۸]. در این پژوهش ازیک قطعه ۲۲۰ نوکلئوتیدی در ناحیه 5́-UTR به منظورآنالیز فیلوژنتیکی و تعیین ژنوتیپ ها استفاده گردید.

در تعدادی از مطالعات فیلوژنی اخیر نیزاز ژن 5́-UTR به این منظور استفاده شده است[۲, ۹-۱۰]. در مجموع توزیع جغرافیایی ژنوتیپ ها هنوز مشخص نشده است وفقط ژنوتیپ های ۱و۲در سراسر جهان به صورت مرتب شناسایی و گزارش می گردند[۵].

۱-۲- ویروس TTV

TTV، ویروس جدیدی است که در سال ۱۹۹۷ توسط نیشی زاوا از یک بیمار ژاپنی مبتلا به هپاتیت با علت ناشناخته، جداسازی شد و اولین بار با افزایش سطوح ALT گزارش گردید و در آن زمان تصور می شد که TTVیکی از ویروس های عامل هپاتیت است ولی اکنون سهم TTV در بیماری های کبدی هنوز مورد بحث است[۵]. با این وجود با PCRکمی نشان داده اند که DNAویروس در بافت های هپاتیک بیشتر از سرم می باشد که این شاید نشانگر آن باشد که ویروس در آسیب های کبدی نقش دارد یا کمک می کند ولی تا کنون الحاق[1] ژنوم TTV در ژنوم هپاتوسیت های هپاتوسلولار کارسینوما مشاهده نشده است. شیوع TTVدر سراسر جهان بر انتقال شخص به شخص آن دلالت می کند وپتانسیل انتقال ویروس از طریق خون و فرآورده های خونی باعث ایجاد ضرورت برای بررسی شیوع این ویروس در جمعیت های دهنده ی خون شده است . با توجه به اینکه بیماری خاصی به طور قطعی به این ویروس نسبت داده نشده است بنابراین مطالعه ای در زمینه اثر داروی خاصی برروی ویروس صورت نگرفته است به جز اینکه اثر اینترفرون ودرمان ترکیبی اینترفرون- ریباویرین در زمان عفونت همزمان با ویروس هپاتیت سی بررسی شده است وطبق این مشاهدات، سویه های معینی از ویروس به درمان با اینترفرون مقاوم هستند در حالی که در یکسری از مطالعات با توجه به کاهش تیتر ویروس در زمان استفاده از اینترفرون، ویروس را حساس به اینترفرون می دانند[۵].

1 . Integration

۱-۳- طبقه بندی

قبل از شناسایی ژنوم حلقوی، آن را در خانواده پارووویروس قرار دادند[۱۱-۱۳]. بعد از کشف حلقوی بودن ژنوم وبه دلیل اینکه از نظر سازماندهی ژنوم شباهت زیادی به ویروس آنمی مرغ از خانواده سیرکوویروس ها داشت پیشنهاد شد که اولین سیرکوویروسی است که باعث عفونت در انسان می شودوهنگامی کهTTV like-mini virus شناسایی شدند از آنجایی که این ویروس ها بینTTV وCAV قرار می گرفتند پیشنهاد شد کهTTV like-mini virus و TTV در یک خانواده جدید طبقه بندی شوند. خانواده سیرکوویریده شامل ویروس های حیوانی است وTTV اولین سیرکوویروس انسانی است که به این خانواده اضافه شده است [۱۴].

سیرکوویروس های حیوانی از خانواده سیرکوویریده شامل سه ویروس زیر می باشند[۴, ۱۲-۱۳].

۱) ویروس آنمی مرغ[۱]

۲) ویروس پر و منقار[۲]

۳) سیرکوویروس های طوطی و خوک[۳]

ویروس آنمی مرغ از نظر ژنوم تشابه بیشتری باTTV دارد.

TTVاز نظر سایز ژنوم و یکسری از خواص بیوشیمیایی با سیرکوویروس های شناخته شده مطابقت نمی کند. موشاوا[۴] و همکاران معتقد هستند که ویروس به یک فامیل جدید بنام Circinoviridae متعلق است.

در مطالعه دیگری تاکاشی[۵] و همکارانش ویروسهایTTV و ویروس آنمی مرغ و TTV-like minivirus را متعلق به یک خانواده جدید بنام Paracircoviridae می دانند[۱۵].

با این وجود تا امروز TTV وویروس های مرتبط با آن در خانواده سیرکوویریده و جنس Anellovirusقرار دارند[۱۶].

1. chiken anemia virus
2. Beak and feather disease virus
3. parrots and porcine virus
4. Mushahwa
5. Takahashi