

Stellungnahme des Arbeitskreises Blut

TT-Virus

1. Wissensstand über den Erreger

Bis heute gibt es Patienten mit Lebererkrankungen, bei denen weder Marker der bisher bekannten Hepatitisvirus-Infektionen noch Alkoholmissbrauch oder andere Noxen nachweisbar sind ("kryptogene Hepatitis"). Ende 1997 wurde in Japan mittels "*representational difference analysis*" (RDA) ein DNA-Virus aus einem Blutspender mit erhöhten Transaminasewerten, aber ohne serologische Marker bekannter Hepatitisviren entdeckt und zunächst eine ca. 500 Nukleotide (nt) lange Sequenz kloniert[1]. Mittlerweile liegt die gesamte Sequenz des TTV-Genoms vor [1-3]. Dieses neue Virus wurde "TT-Virus" (TTV) entsprechend der Initialen des Spenders, aus dessen Serum das neue Virus isoliert wurde (häufig auch als "*transfusion-transmitted virus*" interpretiert), genannt.

1.1 Erregereigenschaften

Die bisher vorliegenden physiko-chemischen Untersuchungen ergaben, daß das TTV ein nichtumhülltes Virus mit einem einzelsträngigen[2], zirkulären DNA-Genom negativer Polarität [3] ist. Nach Filtrationsversuchen scheint es einen Partikeldurchmesser von 30-50 nm zu besitzen. Die Schwimmdichte wurde mit 1,31-1,34 g/ml im CsCl-Gradienten (1,26 g/ml im Saccharosegradienten) bestimmt. Eine elektronenmikroskopische Darstellung liegt bisher nicht vor. Das Virusgenom besteht aus 3.852 Nukleotiden und besitzt 2 offene Leserahmen (ORF1 und ORF2), die für ein 770 bzw. ein 202 Aminosäuren langes Protein unbekannter Funktion kodieren. Sequenzanalysen eines relativ kurzen Teilstücks zeigten eine erhebliche Variabilität des TTV-Genoms, so daß bisher eine Klassifizierung in verschiedene Genotypen mit mehr als 30 % Sequenzunterschieden mit jeweils mehreren Subtypen erfolgen kann [3,4,6]. Auf der Grundlage bisher bekannter Sequenzen wurde kürzlich ein Genotypisierungsverfahren mittels Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus (RFLP-Assay) entwickelt [6]. Die vorliegenden biophysikalischen und molekularen Daten lassen Ähnlichkeiten mit den bisher nur bei Pflanzen und Vertebraten (Vögel und Schweine) nachweisbaren *Circoviridae* erkennen. Da bei Sequenzvergleichen mit allen verfügbaren Sequenzen aus Genomdatenbanken jedoch keine Ähnlichkeiten gefunden werden konnten, wird TTV als ein Vertreter einer neuen Virusfamilie, vorläufig als *Circinoviridae* bezeichnet, klassifiziert [3].

1.2 Infektion und Infektionsverlauf

In Japan wurde zunächst TTV-DNA im Plasma von Patienten mit Posttransfusionshepatitis unklarer Ätiologie nachgewiesen [6]. Unter der ursprünglichen Annahme, daß TTV ein parenteral übertragbarer Hepatitiserreger ist, wurden zunächst unterschiedliche Patientenproben untersucht. TTV-DNA konnte im Tumor- und Nicht-Tumorgewebe von Patienten mit hepatozellulärem Karzinom (HCC) nachgewiesen werden [7]. Der Anteil an TTV-positiven Patienten bei HBV/HCV-assoziierten und Non-B-, Non-C-HCC-Fällen war jedoch gleich. Bei einigen seropositiven Patienten wurde TTV-DNA auch in Stuhlproben [8,9] im Speichel [9], nicht aber im Urin [9] nachgewiesen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß TTV zwar parenteral übertragen werden kann, daß nicht-parenterale Übertragungswege eine

wesentlichere Rolle spielen müssen (z.B. fäkal-oral), was die extrem hohen Prävalenzraten in Personen ohne erhöhtes Risiko für parenterale Infektionen erklären könnte (siehe auch 1.3). Das Virus kann spontan eliminiert werden (unter die Nachweisgrenze des NAT), aber auch über mehrere Jahre ohne klinische und histopathologische Merkmale einer akuten oder chronischen Hepatitis persistieren. TTV-Nachweis und erhöhte Transaminasewerte konnten nur in Einzelfällen beobachtet werden. In der Regel gibt es bei ausschließlich TTV-Positiven keine biochemischen und histologischen Hinweise auf eine Leberzellzerstörung [7]. Bei bestehenden Doppelinfektionen (TTV mit HBV oder HCV) wurden bisher keine Zeichen einer Beeinflussung des Krankheitsverlaufes festgestellt. Es ist möglicherweise ein unbeteiligtes Begleitagens (ähnlich wie GBV-C). Eine intravenöse Inokulation von TTV-positivem Humanserum in Schimpansen zeigte, daß eine Übertragung auf Schimpansen möglich ist [3]. Biochemische oder histologische Beweise für eine Hepatitisentwicklung konnten jedoch nicht gefunden werden. Es ist somit nicht belegt, daß dieses neue Virus bei Lebererkrankungen tatsächlich eine Rolle spielt. Zur Frage einer sexuellen oder vertikalen Transmission (Mutter-Kind) existieren bisher keine Daten.

1.3 Epidemiologie

Das TT-Virus ist weltweit verbreitet. Angaben zur Prävalenz der TTV-Infektion müssen unter Vorbehalt bewertet werden, da teilweise nur kleine Kollektive untersucht und zudem die DNA-Nachweismethoden bisher nicht optimiert und standardisiert wurden. So wurde mit einer semi-nested PCR im Bereich des ORF1 zunächst von TTV-Prävalenzen in gesunden Personen (wie z.B. Blutspendern) zwischen 1% in den USA und 12% in Japan und dem Extremwert von 62% in Brasilien [11] berichtet. Die TTV-Prävalenzen (PCR im ORF1) bei Patienten mit verschiedenen Lebererkrankungen und mit erhöhtem parenteralen Risiko sind generell im Vergleich zu denen bei Blutspendern leicht erhöht, schwanken aber ebenso beträchtlich. So wurde TTV bisher nachgewiesen bei 12-15% der Patienten mit kryptogener Zirrhose, bei 25-46% der Patienten mit chronischer Hepatitis unklarer Ätiologie und bei 12,5-21% der chronisch an Hepatitis C Erkrankten. Bei Patienten mit fulminantem Leberversagen waren 19-47% der Fälle vor orthotoper Lebertransplantation (OLT) TTV-DNA positiv. Nach OLT wurde bei bis zu 78% der Patienten (USA) TTV nachgewiesen. Hämophilie- sowie Hämodialyse-Patienten haben mit 27-57% ebenfalls eine deutlich erhöhte TTV-Prävalenz. Der Einsatz neuer Primer an einem konservierten Abschnitt des TTV-Genoms zeigte, daß in der gesunden Bevölkerung mit sehr viel mehr TTV-Trägern als bisher angenommen zu rechnen ist. So wurde in Japan mit diesem System bei 92% der Untersuchten TTV nachgewiesen [10] (in Deutschland ca. 25%, unveröffentlichte Daten des RKI).

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Eine TTV-Infektion kann derzeit nur über den Nachweis des Genoms mittels PCR diagnostiziert werden. Dabei wird bisher fast ausschließlich eine relativ kurze Sequenz aus dem ORF1 für den DNA-Nachweis und die Sequenzanalyse verschiedener Isolate herangezogen. Durch die Optimierung der PCR durch Verwendung konservierterer Genabschnitte (wie z.B. die 5'- oder 3'-flankierenden Genbereiche des ORF1) kann eine Erhöhung der Nachweis-Effizienz erzielt werden. Endpunkttitrationen und die Quantifizierung mittels TaqMan-PCR zeigen, daß im Vergleich zur HCV- und GBV-C-Infektion bei TTV in Patientenseren eine geringere Viruslast vorzuliegen scheint.

2. Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Erste Studien ergaben, daß in Deutschland die Prävalenz von TTV-Infektionen geschlechtsunabhängig bei ca. 7-11% (bzw. 25% bei PCR im konservierten Genombereich) liegt. Signifikante Prävalenzunterschiede zwischen gesunden Spendern und Spendern mit erhöhten Transaminasewerten konnten nicht beobachtet werden. Inwieweit die im internationalen Vergleich zu beobachtende Schwankungsbreite (1-36% bzw. 25-92%) auf geographische Unterschiede oder auf Sensitivitäts-/Spezifitätsunterschiede der verwendeten PCR-Methoden zurückzuführen ist, ist unklar.

2.2. Spendertestung und Aussagekraft

Die Testung von Spenderblut bzw. -plasma auf TTV-DNA ist prinzipiell mittels PCR möglich. Da es bisher keine Hinweise auf TTV-assoziierte Erkrankungen gibt, ist die Bedeutung positiver Befunde unklar.

2.3 Spenderbefragung

Eine Benennung von Risikogruppen als Grundlage für eine Spenderbefragung ist nach der heutigen Datenlage nicht möglich.

2.4 Spenderinformation und -beratung

Nach heutigem Wissensstand gibt es keine Begründung dafür, Spender über ein positives TTV-Testergebnis zu informieren.

3. Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Eine erste Studie in Großbritannien ergab, daß mit den dort angewendeten Methoden 44-56% der untersuchten Chargen von Faktor VIII- und -IX-Konzentraten TTV-positiv waren. In Hämophilie-Patienten, die nicht-virusinaktivierte Präparate erhalten hatten, wurde bei 27% TTV-DNA nachgewiesen, während nur 5% derjenigen TTV-positiv waren, die virusinaktivierte Konzentrate erhalten hatten [4] (s. auch 4.2). Die Häufigkeit der TTV-Infektion steigt mit der Menge der applizierten Blutprodukte.

3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Bisher liegen keine Untersuchungsergebnisse zur Immunantwort bei TTV-Infizierten vor. Es gibt Beobachtungen, daß TTV-DNA unter die Nachweisgrenze sinken (Virus-elimination?), das Virus aber auch über einen längeren Zeitraum persistieren kann.

3.3 Schwere und Verlauf der Erkrankungen

Ein Zusammenhang zwischen einer TTV-Infektion und Erkrankungen konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

3.4 Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten

Auf der Grundlage des bisherigen Kenntnisstandes erscheint eine gezielte Prophylaxe oder eine Therapie nicht notwendig. Bei retrospektiven Untersuchungen der Interferonwirkung bei HCV-/TTV-koinfizierten Patienten wurde gezeigt, daß es in 100% der Fälle zu einer vorübergehenden und davon in 62,5% zu einer dauerhaften TTV-Eliminierung gekommen ist.

3.5. Übertragbarkeit

Siehe unter 1.2

3.6 Häufigkeit und Menge der Applikation von Blutprodukten

Bei Polytransfundenen (z.B. nach OLT) und in Empfängern von nicht-virusinaktivierten Blutprodukten gelingt der TTV-Nachweis häufiger.

4. Blutprodukte

4.1 Bewertung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Auf Grund der hohen TTV-DNA-Prävalenzen unter Blutspendern ist zu erwarten, daß ein großer Teil von Plasmapools mit TTV kontaminiert ist. Die Viruslast im Einzelplasma ist in der Regel niedrig.

4.2 Möglichkeiten der Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

In einer Untersuchung in Großbritannien [5] wurde in Solvent/Detergent-behandelten Faktor VIII-/IX-Konzentraten häufiger TTV-DNA nachgewiesen als in pasteurisierten (10 Stunden bei 60°C) Präparaten.

4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Elimination/Inaktivierung von Infektionserregern

Bei der Suche nach geeigneten Modellviren ist zu berücksichtigen, dass TTV nach den bisher vorliegenden Erkenntnissen nicht umhüllt ist.

5. Bewertung

Bisher gibt es keine belastbaren Hinweise, daß ein Zusammenhang zwischen einer TTV-Infektion und Lebererkrankungen bzw. extrahepatischen Erkrankungen besteht. Nach der bisherigen Datenlage ist TTV ein Virus, das weltweit verbreitet ist und parenteral übertragbar ist. Die hohe Prävalenz in der gesunden Bevölkerung spricht jedoch für die Bedeutung anderer Übertragungswege, wie z. B. fäkal-oral. Der Nachweis von TTV-DNA im Stuhl könnte auf einen fäkal-oralen Übertragungsmechanismus hinweisen. Weitere Untersuchungen zur klinischen Signifikanz dieses neuen Virus sind notwendig.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 22.09.1999 und vom Arbeitskreis Blut am 16.11.1999 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe "Bewertung Blut-assoziiertes Krankheitserreger" des Arbeitskreises Blut:

Prof. Dr. Reinhard Burger, Prof. Dr. Wolfram Gerlich, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Dr. Hans Lefèvre, PD Dr. Johannes Löwer, Dr. Thomas Montag-Lessing, Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dipl.-Med. Uwe Schlenkrich, Dr. Edgar Werner, Dr. Hannelore Willkommen, unter Mitarbeit von PD Dr. Eckart Schreier und Frau Dr. Marina Höhne, Robert Koch-Institut

Literaturverzeichnis

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; 241: 92-97.
2. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatology* 1998; 10: 1-16.
3. Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Birkenmeyer LG, Chalmers ML, Pilot-Matias TJ, Desai SM. Molecular and biophysical characterization of TT virus: Evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96: 3177-3182
4. Höhne M, Berg T, Müller AR, Schreier E. Detection of sequences of TT virus, a novel DNA virus, in German patients. *J Gen Virol* 1998; 79: 2761-2764.
5. Simmonds P, Davidson F, Lycett C, et al. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet* 1998; 352: 191-195.
6. Tanaka Y, Mizokami M, Orito E, Ohno T, Nakano T, Kato T, Kato H, Mukaide M, Park YM, Kim BS, Ueda R. New genotypes of TT virus (TTV) and a genotyping assay based on restriction fragment length polymorphism. *FEBS Lett* 1998; 437: 201-206.
7. Yamamoto T, Kajino K, Ogawa M, et al. Hepatocellular carcinomas infected with the novel TT DNA virus lack viral integration. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251: 339-343.
8. 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: 128-132.
9. Ross RS, Viazov S, Runde V, Schaefer UW, Roggendorf M. Detection of TT virus DNA in specimens other than blood. *J Clin Virol* 1999; 12: 1-4.
10. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, Yoshida N, Mishiro S. Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepatology* 1998; 12: 233-239.
11. Niel C, de Oliveira JM, Ross RS, Gomes SA, Roggendorf M, Viazov S. High prevalence of TT virus infection in Brazilian blood donors. *J Med Virol* 1999; 57: 259-263.