

Virus *Transfusion Transmitted* pada anak dengan transfusi berulang

Nenny Sri Mulyani¹, Sumadiono¹, Hijikata M², Mishiro S², Mulyanto³

¹Bagian Anak, Fakultas Kedokteran UGM/RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta

²Bagian Ilmu Kedokteran, Rumah Sakit Toshiba, Jepang

³Laboratorium Hepatitis Gora, Nusa Tenggara Barat

ABSTRACT

Nenny SM, Sumadiono, Hijikata M, Mishiro S, Mulyanto: *Transfusion Transmitted virus in children with recurrent transfusion*

Background: TT virus was discovered at the end of 1997 as a human DNA virus by Japanese authors in patients with post transfusion hepatitis of unknown etiology. Investigation of this virus throughout the world demonstrated its high prevalence particularly in some geographic regions. The high prevalence of TT virus in multiple transfused patients points to the importance of a parenteral mode of transmission but since more than half of the general population are infected, other possible routes of transmission must be considered. Indonesia is an area with mild and high endemicity for viral hepatitis, and the prevalence of TT virus has not yet documented.

Objective: The aim of this study was to know the prevalence of TT virus in children with multiple blood transfusion.

Methods. Serum samples of children with repeated transfusion were tested for TTV-DNA by Takahashi method.

Results. TTV prevalence was 97,1% in children with repeated transfusion and 85% in healthy adults.

Conclusions. These findings indicate that the TTV prevalence in children with repeated transfusion as high as in healthy adults. These findings indicate that the parenteral routes of transmission may not play a major role for the infection of TT virus in Yogyakarta. But how about the role of this TTV infection in hepatotropism especially in our country need further study.

Key words : TTV – prevalence – Takahashi method – repeated transfusion

ABSTRAK

Nenny SM, Sumadiono, Hijikata M, Mishiro S, Mulyanto – Virus TT pada anak dengan transfusi berulang

Latar belakang: Virus TT ditemukan diakhir tahun 1997 sebagai virus DNA pada pasien pasca transfusi yang tidak diketahui penyebabnya oleh peneliti Jepang. Penelitian virus TT menunjukkan prevalensi yang tinggi di dunia terutama pada tempat tertentu. Prevalensi yang tinggi pada penderita dengan transfusi berulang menunjukkan bahwa penularan virus TT yang utama adalah secara parenteral. Namun oleh karena lebih dari 50% populasi mengalami infeksi, sehingga tidak menutup kemungkinan adanya cara penularan yang lain. Indonesia merupakan daerah dengan endemisitas sedang sampai tinggi untuk virus hepatitis namun sejauh ini prevalensi virus TT ini belum pernah dilaporkan.

Tujuan: penelitian ini adalah untuk mengetahui prevalensi virus TT pada anak yang mempunyai riwayat transfusi berulang.

Metode: Penelitian ini adalah studi belah lintang. Sampel diambil dari anak dengan riwayat transfusi berulang yang datang di poliklinik anak RS Dr Sardjito dengan kurun waktu 1 Januari 1999 sampai dengan 30 Desember 1999 dan dokter muda yang sedang menjalani kepaniteraan di Bagian Ilmu Kesehatan Anak RS Dr Sardjito Dilakukan pemeriksaan DNA virus TT dengan menggunakan metoda Takahashi.

Hasil: Prevalensi virus TT pada anak dengan riwayat transfusi berulang adalah 97,1% dan pada orang dewasa sehat adalah 85%.

Nenny SM, Sumadiono, Departments of Pediatrics Faculty of Medicine Gadjah Mada University/
Dr. Sardjito Hospital Yogyakarta
Hijikata M, Mishiro S, Department of Medical Sciences Toshiba General Hospital Japan
Mulyanto West Nusa Tenggara Bumi Gora Hepatitis Laboratory

Simpulan: Penemuan menunjukkan bahwa prevalensi virus TT pada anak dengan riwayat transfusi berulang sama tinggi dibandingkan dewasa sehat. Penularan secara parenteral tidak memegang peranan penting terhadap penularan virus TT di Yogyakarta. Perlu diteliti lebih lanjut peran virus TT ini sebagai virus hepatotropik.

PENGANTAR

Setelah berhasil dikembangkan perasat diagnostik untuk mengidentifikasi hepatitis B pada tahun 1963 dan hepatitis A pada tahun 1973, masih tetap ada penderita hepatitis yang serumnya negatif terhadap keduanya. Hepatitis ini kemudian kita kenal dengan hepatitis non-A non-B. Pada waktu itu diyakini bahwa kurang lebih 90-95% dari kasus yang tidak dapat diklasifikasikan tersebut adalah hepatitis yang sekarang disebut hepatitis C, ditemukan pada tahun 1989¹. Pada tahun 1990 sudah dapat dilakukan pemeriksaan anti HCV. Setelah ditemukannya virus C masih tetap ada hepatitis yang tidak dapat diidentifikasi dengan perasat-perasat yang ada dan separuh dari yang tidak diketahui tersebut mempunyai riwayat transfusi sebelumnya². Virus hepatitis G ditemukan tahun 1996 pada penderita hepatitis pasca transfusi. Hanya saja penelitian selanjutnya tidak dapat membuktikan secara konsisten peran virus G ini pada manusia³.

Pada tahun 1997 dipublikasikan suatu penemuan virus DNA baru pada penderita hepatitis pasca transfusi oleh Nishisawa dkk di Jepang dan virus tersebut diberi nama sebagai virus TT sesuai nama initial dari penderitanya atau juga disebut sebagai *Transfusion Transmitted*⁴. Virus ini juga ditemukan di Cina pada pasien dengan hepatitis pasca transfusi⁵.

Virus TT termasuk virus DNA dengan 3852 nukleotida, *single stranded* dan tidak mempunyai *envelope*. Virus ini digambarkan sebagai virus penyebab hepatitis non-A-G. Ukuran virus TT adalah 30-50 nm^{6,7,8}. Diagnosis dari virus TT ditegakkan dengan *polymerase chain reaction* DNA.

Penelitian epidemiologi virus TT ini kemudian banyak dikerjakan di Jepang dan negara-negara lain di dunia. Prevalensi yang tinggi didapat pada penderita hemofilia di UK⁹, dan Jepang^{10,11} serta pada penderita thalassemia di Itali¹².

Indonesia termasuk daerah dengan endemisitas sedang sampai tinggi untuk virus-virus yang

ditularkan secara parenteral ataupun *fecal-oral* yaitu hepatitis virus B dan A. Prevalensi dan transmisi virus TT ini di Indonesia belum pernah ada yang melaporkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prevalensi virus TT ini pada anak dengan riwayat transfusi berulang dan pada dewasa sehat, yaitu dokter muda yang sedang bertugas kepaniteraan klinik di Bagian Ilmu Kesehatan Anak.

BAHAN DAN CARA

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan *cross-sectional*, pada anak dengan riwayat transfusi di Bagian Ilmu Kesehatan Anak RS DR Sardjito pada tahun 1999.

Selama periode penelitian terkumpul serum dari 34 anak dengan riwayat transfusi berulang yang terdiri dari thalassemia dan non-thalassemia dan dari 70 dokter muda (umur > 20 tahun) yang sedang bertugas di Bagian Ilmu Kesehatan Anak pada periode yang sama.

Deteksi virus TT di serum dilakukan dengan prosedur berikut. Darah sebanyak 3 cc dari masing-masing sampel disentrifus untuk diambil serumnya kemudian disimpan dan dikirim ke laboratorium hepatica Mataram selanjutnya dikirim ke Jepang. Pada tahap selanjutnya DNA virus TT diamplifikasi dengan PCR menggunakan metoda Takahashi. Secara singkat, termosikler diprogram pertama 95°C selama 10 menit untuk mengaktifkan AmpliTaq Gold DNA polymerase kemudian diikuti 55 siklus yang terdiri dari 94°C selama 20 detik, 60°C selama 20 detik, dan 72°C selama 30 detik. Sekuen primer spesifik virus TT adalah 5'-GCTACGTCCTAACCACGTG-3' (t801, primer sense, nukleotida 6 - 25) dan 5'-CTBCGGTGTGTGTAACCTACC-3' (T935, primer antisense, nukleotida 185 - 204, B berupa G atau C atau T). Produk PCR diperkirakan berdasar pola migrasi untai DNA 50 bp.¹⁷

HASIL

TABEL 1. Karakteristik subyek penelitian

Karakteristik	Jumlah pasien (%)
Umur (anak dengan transfusi berulang) :	
0-4 tahun	12 (35,3%)
5-9 tahun	12 (35,3%)
10-14 tahun	9 (26,5%)
> 15 tahun	1 (2,9%)
TOTAL	34 (100 %)
Umur (dokter muda) :	
>20 tahun	70 (100%)
TOTAL	70 (100%)

TABEL 2. Prevalensi TTV pada pasien dengan transfusi berulang

Karakteristik	Jumlah pasien (%)
Positif :	
0-4 tahun	12 (35,3%)
5-9 tahun	11 (32,4%)
10-14 tahun	9 (26,5%)
> 15 tahun	1 (2,9%)
Total	33 (97,1%)
>20 tahun (dokter muda)	60 (85%)
Negatif :	
0-4 tahun	0
5-9 tahun	1 (2,9%)
10-14 tahun	0
> 15 tahun	0
Total	1 (2,9%)
>20 tahun (dokter muda)	10 (15%)

DISKUSI

Virus TT ditemukan pertama kali pada penderita pasca transfusi yang tidak dapat ditentukan penyebabnya dari virus-virus hepatitis yang ditemukan sebelumnya⁴. Dengan primer Takahashi ditemukan prevalensi yang tinggi pada anak pasca transfusi berulang yaitu 78,9% di Jepang dan kemudian juga di Cina⁵. Pada penelitian yang kami lakukan dengan metoda yang sama yaitu Takahashi ditemukan prevalensi 97,1% pada anak dengan transfusi berulang. Hal ini sesuai dengan yang ditemukan di negara lain. Tingginya prevalensi ini mendukung bahwa penularan virus TT terutama adalah secara parenteral^{13,14,15}. Prevalensi yang sangat tinggi ditemukan pada populasi sehat dari tempat-tempat yang berlainan di dunia baik negara maju maupun berkembang^{14,16,17,18,19,20,21}. Pada penelitian ini ditemukan prevalensi yang tinggi pada

dewasa sehat, tanpa riwayat transfusi. Hal ini menimbulkan pemikiran terdapatnya cara penularan selain parenteral. Penelitian di Inggris menunjukkan prevalensi virus TT pada orang sehat tidak berbeda bermakna dengan kelompok penderita penyakit hati²². Dengan penemuan-penemuan tadi timbul pertanyaan apakah virus TT tersebut yang menyebabkan hepatitis atau hanya didapatkan secara kebetulan bersama-sama dengan penyebab yang lain. Kemungkinan lain, tidak tampaknya gejala klinis pada orang sehat merupakan variasi klinis seperti halnya yang ditemukan pada virus hepatotropik yang lain. Penelitian tentang patomekanisme kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh virus TT perlu diteliti.

SIMPULAN

Prevalensi virus TT pada anak dengan transfusi berulang ditemukan sama tingginya pada populasi sehat. Sebagai simpulan bahwa keberadaan virus TT pada penelitian ini sama dengan di negara berkembang maupun negara maju. Perlu dipikirkan peran virus TT ini terhadap kejadian hepatitis pada manusia.

KEPUSTAKAAN

- Alter M. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26: 62S-65S.
- Kodali V, Gordon S, Silverman A, McCray D. Cryptogenic liver disease in the United States: Further evidence for non-A, non-B, and non-C hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1836-9.
- Miyakawa Y, Mayumi M. Hepatitis G virus: A true hepatitis virus or an accidental tourist? *N Engl J Med* 1997; 336: 795-96.
- 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 Comm* 1997; 241 (1): 92-97.
- Yang SS, Wu CH, Chen TH, Huang YY, Huang CS. TT viral infection through blood transfusion: retrospective investigation on patients in a prospective study of post transfusion hepatitis. *World J Gastroenterol* 2000; 6:70-73.
- Erker JC, Leary TP, Desai SM, Chalmers ML, Mushahwar IK. Analyses of TT virus full-length genomic sequences. *J Gen Virol* 1999; 80: 1743-50.
- Miyata H, Tsunoda H, Kazi A, Yamada A, Khan MA, Murakami J, et al. Identification of a novel GC-rich 113-nucleotide region to complete the circular, single-stranded

- DNA genome of TT virus, the first human circovirus. *J Virol* 1999; 73: 3582-86.
8. Mushahwar IK, Erker JC, Muerhoff AS, Leary TP, Simons JN, Birkenmeyer, *et al.* Molecular and biophysical characterization of TT virus: evidence for a new virus family infecting humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3177-82.
 9. Irving WL, Ball JK, Berridge S, Curran R, Grabowska AM. TT virus infection in patients with hepatitis C: frequency, persistence and sequence heterogeneity. *J Infect Dis* 1999; 180 (27): 27-34.
 10. Fukuda Y, Nakano I, Katano Y, Toyoda H, Ebata M, Nagano K, *et al.* TT virus infection in Japanese hemophilia patients. *Hepatology* 1998; 28: A516.
 11. Takayama S, Miura T, Matsuo S, Taki M, Suguii S. Prevalence and persistence of a novel DNA TT virus (TTV) infection in Japanese haemophiliacs. *Br J Haematol* 1999; 104 (3): 626-9.
 12. Prati D, Lin YH, de Mattei C, Lui JK, Farma E, Ramaswamy L *et al.* A prospective study of TT Virus infection in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia. *Blood* 1999; 93(5):1502-5.
 13. Desai SM, Muerhoff AS, Leary TR. Prevalence of TT virus in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses. *J Infect Dis* 1999; 179 (5): 1242-4.
 14. Niel C, de Oliveira J, Ross Rudolf, Gomes S, Roggendorf M, Viazov S. High prevalence of TT virus infection in Brazilian blood donors. *J Med Virol* 1999; 57 (3): 259-63.
 15. Tanaka Y, Mizokami M, Orito E. A new genotype of TT virus (TTV) infection among Colombian native Indians. *J Med Virol* 1999; 57(3): 264-68.
 16. Prescott LE, Simmonds P. Global distribution of transfusion-transmitted virus. *N Engl J Med* 1998; 339: 776-77.
 17. 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. *Hepato Res* 1998; 12: 233-39.
 18. Tanaka H, Okamoto H, Luengrojankul P, Chainuvati T, Tsuda F, Tanaka T, *et al.* Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with posttransfusion non-A to G hepatitis patients and healthy blood donors in Thailand. *J Med Virol* 1998; 56: 234-38.
 19. Leary TP, Erker JC, Chalmers ML, Desai SM, Mushahwar IK. Optimized PCR assay for the detection of TT virus. *J Virol Meth* 1999; 82: 109-12.
 20. Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, *et al.* Marked genomic heterogeneity and frequent mixed infection of TT virus demonstrated by PCR with primers from coding and noncoding regions. *Virology* 1999; 259: 428-36.
 21. Handa A, Dickstein B, Young NS, Brown KE. Prevalence of the newly described human circovirus, TTV, in United States blood donors. *Transfusion* 2000; 40: 245-51.
 22. Naoumov N V, Petrova, M G, Thomas G, Williams R. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet* 1998; 352: 195-97.