



Сравнение различных вариантов выявления ДНК вирусов TTV, TTMDV и TTMV

О. В. Осипкина¹, Е. В. Воропаев¹, В. М. Мицура^{1,2},
Д. В. Терешков³, А. А. Ковалёв¹

¹Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

²Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель, Беларусь

³Гомельская областная инфекционная клиническая больница, г. Гомель, Беларусь

Резюме

Цель исследования. Сравнить различные варианты выявления ДНК TTV, TTMDV и TTMV в плазме крови пациентов с различными заболеваниями печени и у лиц без признаков заболеваний печени.

Материалы и методы. Для выявления ДНК TTV, TTMDV и TTMV использовался метод ПЦР.

Результаты. Обнаружена достаточно высокая частота выявления ДНК вирусов TTV при использовании разных лабораторных подходов. Частота выявления ДНК TTV значимо выше при использовании праймеров для некодирующего региона UTR — 77,3 % при сравнении с кодирующим ORF1 — 38,4 % ($p < 0,001$) и коммерческим набором реагентов — 53 % ($p < 0,005$).

Заключение. У пациентов с заболеваниями печени по сравнению со здоровыми лицами значимо чаще выявляются ДНК TTV (90,3 и 65,6 % по UTR-региону и с использованием коммерческого набора соответственно), ДНК TTMV (83,9 % — UTR-регион) и микст ДНК вирусов TTV + TTMDV + TTMV (62,4 % — UTR-регион). С целью стандартизации определения ДНК вирусов семейства TTV методом ПЦР целесообразно создание панели сывороток, содержащей достоверно положительные и отрицательные образцы.

Ключевые слова: TTV, ПЦР, лабораторная диагностика.

Вклад авторов. Осипкина О.В.: обзор литературы по теме исследования, концепция и дизайн исследования, создание базы данных, выбор методов, написание текста, анализ и интерпретация данных; Воропаев Е.В.: концепция исследования, обсуждение и интерпретация данных; Мицура В.М.: обсуждение и интерпретация данных, статистическая обработка, редактирование; Терешков Д.В.: сбор материала; Ковалёв А.А.: статистическая обработка.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Алексею Зятыкову и Наталье Рубаник за участие в проведении лабораторных исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Исследование проведено в рамках выполнения НИОК(Т)Р «Разработать методы диагностики и патогенетического лечения хронических прогрессирующих заболеваний паренхиматозных органов и связанных с ними состояний, сопровождающихся нарушением процессов регенерации», № госрегистрации 20190387 от 29.03.2019 г.

Для цитирования: Осипкина ОВ, Воропаев ЕВ, Мицура ВМ, Терешков ДВ, Ковалев АА. Сравнение различных вариантов выявления ДНК вирусов TTV, TTMDV и TTMV. *Проблемы здоровья и экологии.* 2022;19(1):102–108. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2022-19-1-13>

Comparison of different DNA detection options for TTV, TTMDV, and TTMV viruses

Olga V. Osipkina¹, Evgenii V. Voropaev¹, Viktor M. Mitsura^{1,2},
Dmitriy V. Tereshkov³, Alexey A. Kovalev¹

¹Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

²Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

³Gomel Regional Clinical Hospital of Infectious Diseases, Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To compare different variants of TTV, TTMDV, and TTMV DNA detection in the blood plasma of patients with various liver diseases and in individuals without signs of liver disease.

Materials and methods. To detect TTV TTMDV, and TTMV DNA, the PCR method was used.

Results. A fairly high frequency of TTV virus DNA detection was found using different laboratory approaches. The frequency of TTV DNA detection was significantly highest when using the primers for the non-coding region UTR – 77.3 % compared with the coding region ORF1 – 38.4 % ($p < 0.001$) and the commercial kit – 53 % ($p < 0.005$).

Conclusion. TTV DNA is detected significantly more often in patients with liver diseases compared with healthy individuals (90.3 % and 65.6 % in the UTR region and using the commercial kit, respectively), TTMV DNA (83.9 % – UTR region) and mixed DNA of the TTV + TTMDV + TTMV viruses (62.4 % – UTR region). To standardize the DNA detection of the TTV family viruses by the PCR method, it is advisable to create a panel of sera containing reliably positive and negative samples.

Keywords: TTV, PCR, laboratory diagnostics.

Author contributions. Osipkina O.V.: literature review on the topic of the study, research concept and design, compilation of the database, choice of methods, writing the text, statistical data processing, discussion and interpretation of the data; Voropaev E.V.: research concept, discussion and interpretation of the data; Mitsura V.M.: discussion and interpretation of the data, statistical data processing, editing; Tereshkov D.V.: collecting material; Kovalev A.A.: statistical data processing.

Acknowledgments. The authors would like to express their gratitude to Aleksey Zyatskov and Natalia Rubanik for their participation in laboratory research.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was carried out within the framework of the R&D project “To develop methods for the diagnosis and pathogenetic treatment of chronic progressive diseases of the parenchymal organs and related conditions accompanied by failed regeneration processes” under State Registration No.20190387 dated 29.03.2019.

For citation: Osipkina OV, Voropaev EV, Mitsura VM, Tereshkov DV, Kovalev AA. Comparison of different DNA detection options for TTV, TTMDV, and TTMV viruses. *Health and Ecology Issues*. 2022;19(1):102–108. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2022-19-1-13>

Введение

В настоящее время большое внимание уделяется изучению роли вирома в развитии заболеваний человека и сохранении здоровья. Виром играет важную роль в модуляции иммунной защиты и способствует развитию воспалительных процессов. Обнаружение новых вирусных инфекционных агентов, с одной стороны, представляет фундаментальное значение и в то же время имеет практический интерес для здоровья человека, так как они могут оказаться причиной острых или хронических заболеваний, которые на сегодняшний день имеют неизвестную этиологию. Например, в одном из исследований при проведении высокопроизводительного секвенирования циркулирующей внеклеточной ДНК из крови более чем 1000 образцов были идентифицированы сотни новых бактерий и вирусов, в том числе обнаружены TTV-вирусы, имеющие нуклеотидные последовательности, отличающиеся от известных [1].

Вирус TTV (Torque Teno virus, латинское torques — ожерелье и tenuis — тонкий) впервые был обнаружен у пациента с посттрансфузионным гепатитом неизвестной этиологии в 1997 г. [2]. Дальнейшие исследования показали, что TTV представляет собой небольшой безоболочечный вирус,

содержащий кольцевой одноцепочечный геном отрицательно-смысловой ДНК размером около 3,8 тыс. нуклеотидов. [3]. Последовательность генома TTV включает две большие открытые рамки считывания (ORF1 кодирует вирусный белок капсида, ORF2 кодирует неструктурные белки) и несколько малых, а также некодирующий регион (UTR) [4]. Некодирующий регион содержит домен длиной около 130 нуклеотидов, который является консервативным для различных изолятов вируса [5]. Согласно классификации Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), в состав семейства *Anelloviridae* входит род *Alphatorquevirus* (22 вида Torque teno virus), род *Betatorquevirus* (38 видов Torque Teno mini virus — TTMV, первое сообщение в 2000 г.) и род *Gammatorquevirus* (15 видов Torque teno midi virus — TTMDV, первое сообщение в 2007 г.) [5]. Геномы TTMV и TTMDV, несмотря на отличия, сохраняют значительное сходство с TTV. Данные вирусы изучены в меньшей степени, они также кольцевые, состоят из одноцепочечной ДНК, размер генома TTMV — 2,9 тыс. нуклеотидов, а TTMDV — 3,2 тыс. нуклеотидов [5].

В многочисленных исследованиях показана высокая генетическая изменчивость

и распространенность TTV, данные о патогенетических аспектах противоречивы [6]. TTV обнаружены в большинстве тканей и биологических жидкостей организма: в крови, слюне, поте, моче, кале, желчи, печени, лимфоузлах, легких, костном мозге [3, 7]. Наиболее распространено выявление ДНК TTV в сыворотке (плазме) крови методом ПЦР. Из-за высокой гетерогенности и изменчивости нуклеотидной последовательности трудно найти универсальный набор праймеров для всех существующих TTV-генотипов, обнаружение зависит от использования консервативных или гипервариабельных участков генома [3].

В литературных источниках описана кинетика продукции антител к TTV у лиц, перенесших предполагаемую первичную инфекцию [8]. Показано медленное нарастание ответа: TTV-специфические IgM были впервые обнаружены в сыворотке крови через 10–21 нед. после вирусного заражения, затем их концентрация снижалась, и через 5–11 нед. IgM не выявлялись. IgG, как правило, образуются на несколько недель позже, их концентрация повышается и сохраняется с некоторыми колебаниями на протяжении длительного периода [8]. Большинство TTV, обнаруживаемых в крови хронически инфицированных пациентов, находятся в комплексе с IgG (от 80 до 95 % от общего TTV), в то время как при предполагаемых острых инфекциях в крови пациентов представлены свободные частицы TTV, количество которых превышает находящиеся в комплексе [8]. Адаптивный иммунный ответ хозяина играет ключевую роль в разрешении анеловирусной инфекции, доказательством является более высокая вирусная нагрузка в крови у лиц, инфицированных ВИЧ-1, и у других пациентов с ослабленным иммунитетом [9].

Выполнены исследования с целью разработки иммунологического анализа выявления TTV-специфичных антител с использованием ORF1 или ORF-2 пептидов [8,10], однако необходимо дальнейшее изучение эффективности предлагаемых методов при обнаружении антител независимо от генотипа TTV. Более ранние исследования показали, что разные генетические варианты антигенно различаются [11]. Имеющиеся наборы для проведения иммуноферментного анализа (ELISA) с целью выявления антител IgM и IgG не стандартизованы. Многие аспекты неизвестны: нет сведений об изучении TTV-специфических IgA в крови и на

слизистых, нет ответа на вопрос, являются ли TTV-специфические антитела вируснейтрализующими.

Таким образом, единственным диагностическим подходом остается обнаружение вирусной ДНК в плазме или других клинических образцах методом ПЦР, однако метод имеет свои ограничения. Требуется поиск универсального набора праймеров для всех существующих генотипов TTV, необходима их актуализация в связи с изменчивостью вируса. Отсутствие стандартизованных серологических тестов не позволяет дифференцировать недавно перенесенную инфекцию. Важной задачей является поиск простого и надежного метода идентификации TTV-инфекции, а также выбор праймеров для специфического обнаружения генотипов TTV, ассоциированных с клиническими проявлениями, в том числе с острыми и хроническими заболеваниями печени.

Цель исследования

Сравнить различные варианты выявления ДНК TTV, TTMDV и TTMV в плазме крови пациентов с различными заболеваниями печени и у лиц без признаков заболеваний печени.

Материалы и методы

Сформированы группы пациентов: I группа — пациенты с различными заболеваниями печени (острые и хронические вирусные гепатиты В и С, гепатиты неуточненной этиологии, циррозы печени различной этиологии, «хронический вирусный гепатит неуточненный» (МКБ10 код V18.9)) (n = 93, средний возраст — $39,6 \pm 15,0$); II группа — лица без признаков заболевания печени, имеющие отрицательные результаты обследования на маркеры вирусных гепатитов (n = 92, средний возраст — $38,7 \pm 12,0$). Участники исследования являлись жителями г. Гомеля или Гомельской области, были информированы о целях исследования и предстоящих процедурах (получено информированное письменное согласие). В качестве биологического материала для исследования использовали плазму крови пациентов.

В исследовании применен метод полимеразной цепной реакции. Для выявления ДНК TTV использовали коммерческие наборы реагентов «ПОЛИГЕП-TTV» (ООО «Научно-производственная фирма ЛИТЕХ», РФ). Эти наборы предназначены для проведения исследований с целью качественного определения ДНК ТТ-вируса в сыворотке или

плазме крови методом ПЦР с регистрацией продуктов амплификации в реальном времени. Регион генома, по которому происходит выявление вируса, не указан в инструкции производителя, чувствительность набора составляет 1000 геном-эквивалентов ТТ-вируса в 1 мл сыворотки или плазмы крови. В состав набора входят комплекты реагентов для экспресс-выделения ДНК. ПЦР в режиме реального времени проведена с применением амплификатора Rotor-Gene Q 5plex HRM («Qiagen», Германия). В наборы включены: отрицательный контрольный образец выделения, отрицательный контрольный образец ПЦР, положительный контрольный образец. Постановку реакции амплификации, анализ и интерпретацию результатов проводили согласно инструкции производителя, отчет формируется автоматически.

Для выявления ДНК вирусов TTV, TTMV, TTMDV использован метод диагностики ТТ-вирусной инфекции, включающий выявление фрагмента некодирующего региона ДНК [12], основанный на nested-ПЦР [13] (полимеразная цепная реакция в «гнездовом» формате). Также проведено выявление ДНК вирусов TTV по кодирующему региону генома. Структура праймеров для проведения гнездовой ПЦР, выявляющей кодирующий регион TTV: ТТ6, прямой, первый раунд асагасагaggаaggсаа; ТТ7, обратный, первый раунд тaccatttagctctcatt; ТТ8, прямой, второй

раунд аасатgttatggatagactgg; ТТ9, обратный, второй раунд ctggcattttaccatttcca [14].

Программа амплификации первого раунда: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 25 циклов (95 °С — 25 с, 55 °С — 15 с, 45 °С — 15 с, 72 °С — 25 с); финальная элонгация 1 цикл — 72 °С, 2 мин. Программа амплификации второго раунда ПЦР: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 30 циклов (95 °С — 20 с, 50 °С — 20 с, 72 °С — 20 с); финальная элонгация 1 цикл — 72 °С, 2 мин. В результате амплификации получен целевой продукт размером 267 пар нуклеотидов.

В результате проведения исследований с помощью разных вариантов проведения ПЦР был определен статус каждого образца по наличию и отсутствию ДНК TTV, также проведено выявление ДНК вирусов TTMDV и TTMV. Выполнена статистическая обработка данных с использованием среды программирования R.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены данные абсолютных величин, относительных частот (доверительный интервал — ДИ 95 %) выявления ДНК TTV, TTMDV, TTMV в общей выборке пациентов методом ПЦР с использованием кодирующего и некодирующего регионов и коммерческого набора реагентов.

Таблица 1. Данные абсолютных величин, относительных частот (доверительный интервал — ДИ 95 %) положительных результатов выявления ДНК TTV, TTMDV, TTMV в общей выборке пациентов

Table 1. Data on the absolute values, relative values (confidence interval — CI 95 %) of the positive results of TTV, TTMDV, TTMV DNA detection in the total sample of patients

Вариант выявления	Абс. (%)	95 % ДИ
TTV (ORF1-регион)	71 (38,4 %)	31,7–45,6
TTV (UTR-регион)	143 (77,3 %)	70,7–82,8
Коммерческий набор реагентов для выявления ДНК TTV	98 (53 %)	45,8–60,0
TTMDV (UTR-регион)	116 (62,7 %)	55,5–69,4
TTMV (UTR-регион)	138 (74,6 %)	67,9–80,3
TTV или TTMDV, или TTMV (UTR-регион)	156 (84,3 %)	78,4–88,9
Микст TTV + TTMDV + TTMV (UTR-регион)	100 (54,1 %)	46,9–61,1

Согласно полученным данным (таблица 1), обнаружена достаточно высокая частота выявления ДНК вирусов TTV в общей выборке пациентов при использовании разных лабораторных подходов (ORF1-регион,

UTR-регион и коммерческий набор реагентов). Частота выявления ДНК TTV значительно выше при использовании праймеров для некодирующего региона — 77,3 % при сравнении с кодирующим — 38,4 % ($p < 0,001$)

и коммерческим набором реагентов — 53 % ($p < 0,005$). Данные методы демонстрируют невысокий уровень совпадения результатов: при сравнении коммерческого набора реагентов и метода выявления по кодирующему региону совпало 56,1 % позитивных результатов (ДНК вируса выявлена) и 81,6 % негативных (ДНК вируса не выявлена). При сравнении коммерческого набора реагентов и метода выявления по некодирующему региону совпало 89,7 % позитивных результатов и 36,8 % негативных. Отсутствие «золотого стандарта» (эталона) представляет собой проблему для подобного рода исследований. Известно, что чувствительные диагностические тесты способствуют максимально-му предотвращению пропуска заболевания, специфичные тесты диагностируют только

истинно больных. Это важно в случаях, когда гипердиагностика пациентов нежелательна, так как лечение пациентов связано с серьезными побочными эффектами. С целью стандартизации определения ДНК вирусов семейства TTV методом ПЦР целесообразно создание панели сывороток, содержащей достоверно положительные и отрицательные образцы.

В таблице 2 приведены данные абсолютных величин, относительных частот (доверительный интервал — ДИ 95 %) выявления ДНК TTV, TTMDV, TTMV в группе пациентов с заболеваниями печени и группе здоровых добровольцев методом ПЦР с использованием кодирующего и некодирующего регионов и коммерческого набора реагентов.

Таблица 2. Данные абсолютных величин, относительных частот (доверительный интервал — ДИ 95 %) положительных результатов выявления ДНК TTV, TTMDV, TTMV в группах пациентов

Table 2. Data on the absolute values, relative values (confidence interval – CI 95 %) of the positive results of TTV, TTMDV, TTMV DNA detection in the groups of patients

Выявление TTV	Группа I — пациенты с заболеваниями печени, n = 93		Группа II — здоровые добровольцы, n = 92		Уровень p
	абс. (%)	95 % ДИ	абс. (%)	95 % ДИ	
TTV (ORF1-регион)	36 (38,7 %)	29,4–48,9	35 (38 %)	28,8–48,3	1
TTV (UTR-регион)	84 (90,3 %)	82,6–94,8	59 (64,1 %)	53,9–73,2	0,000046
Коммерческий набор реагентов для выявления ДНК TTV	61 (65,6 %)	55,5–74,5	37 (40,2 %)	30,8–50,4	0,0009
TTMDV (UTR-регион)	64 (68,8 %)	58,8–77,3	52 (56,5 %)	46,3–66,2	0,1148
TTMV (UTR-регион)	78 (83,9 %)	75,0–89,9	60 (65,2 %)	55,1–74,2	0,006
TTV или TTMDV, или TTMV (UTR-регион)	87 (93,5 %)	86,6–97,0	69 (75 %)	65,3–82,7	0,0011
Микст TTV + TTMDV + TTMV (UTR-регион)	58 (62,4 %)	52,2–71,5	42 (45,7 %)	35,9–55,8	0,03

Группа пациентов с заболеваниями печени и группа здоровых добровольцев статистически значимо отличаются по частоте выявления ДНК вирусов TTV ($p = 0,000046$), TTMV ($p = 0,006$), микст (TTV + TTMDV + TTMV) ($p = 0,03$) при выявлении по некодирующему региону, а также при выявлении ДНК TTV с использованием коммерческого набора реагентов ($p = 0,0009$), при этом частота выявления ДНК TTV выше в группе пациентов с заболеваниями печени и составляет 90,3, 83,9, 62,4 и 65,6 % соответственно. Не выявлены отличия между группами по частоте выявления TTV по кодирующему

региону и по частоте выявления TTMDV по некодирующему региону. Частота выявления ДНК как минимум одного из вирусов (TTV или TTMDV, или TTMV) также высока и составляет 93,5 и 75 % в группе пациентов с заболеваниями печени и группе здоровых добровольцев соответственно. Такая высокая распространенность вирусов TTV, TTMDV, TTMV обуславливает проведение дальнейших исследований.

Заключение

У пациентов с заболеваниями печени по сравнению со здоровыми лицами значимо

чаще выявляются ДНК TTV (90,3 и 65,6 % по UTR-региону и с использованием коммерческого набора соответственно), ДНК TTMV (83,9 % — UTR-регион) и микст ДНК вирусов TTV + TTMDV + TTMV (62,4 % — UTR-реги-

он). С целью стандартизации определения ДНК вирусов семейства TTV методом ПЦР целесообразно создание панели сывороток, содержащей достоверно положительные и отрицательные образцы.

Список литературы

1. Kowarsky M, Camunas-Soler J, Kertesz M, De Vlaminc I, Koh W, Pan W, et al. Numerous uncharacterized and highly divergent microbes which colonize humans are revealed by circulating cell-free DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017;114(36):9623-9628. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1707009114>
2. 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(1):92-97. DOI: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7765>
3. Okamoto H. History of discoveries and pathogenicity of TT viruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;331:1-20. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-70972-5_1
4. Miyata H, Tsunoda H, Kazi A, Yamada A, Khan MA, Murakami J, Kamahora T, Shiraki K, Hino S. 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(5):3582-3586. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.73.5.3582-3586.1999>
5. Virus Taxonomy: 2020 Release [Electronic resource]. International Committee on Taxonomy of Viruses [data of access 23 January 2022]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
6. Reshetnyak V, Maev I, Burmistrov A, Chekmazov I, Karlovich T. Torque teno virus in liver diseases: On the way towards unity of view. *World J Gastroenterol*. 2020;26(15):1691-1707. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i15.1691>
7. Spandole S, Cimponeriu D, Berca L, Mihăescu G. Human anelloviruses: an update of molecular, epidemiological and clinical aspects. *Arch Virol*. 2015;160:893-908.
8. Maggi F, Bendinelli M. Immunobiology of the Torque teno viruses and other anelloviruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;331:65-90. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-70972-5_5
9. Schmidt L, Jensen B, Walker A, et al. Torque Teno Virus plasma level as novel biomarker of retained immunocompetence in HIV-infected patients. *Infection* 2021;49:501-509. DOI: <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01573-7>
10. Chen T, Väisänen E, Mattila P, Hedman K, Söderlund-Venermo M. Antigenic diversity and seroprevalences of torque teno viruses in children and adults by ORF2-based immunoassays. *J Gen Virol*. 2013;94:409-417. DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.046862-0>
11. Mankotia D, Irshad M. Development of an Immunoassay for Detection of Torque Teno Virus (TTV) Antibodies Using the N22 Expression Product from TTV Genotype 2. *Intervirology*. 2017;60(5):207-216. DOI: <https://doi.org/10.1159/000487481>
12. Осипкина ОВ, Воропаев ЕВ, Мицура ВМ, Терешков ДВ, Зятков АА, Баранов ОЮ. Метод молекулярной диагностики ТТ-вирусной инфекции: инструкцию по применению. Гомель; 2018. 15 с.
13. Ninomiya M, Takahashi M, Nishizawa T, Shimosegawa T, Okamoto H. Development of PCR Assays with Nested Primers Specific for Differential Detection of Three Human Anelloviruses and Early Acquisition of Dual or Triple Infection during Infancy. *Journal of Clinical Microbiology*. 2008;2(46):507-514. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01703-07>
14. Hu Y, Al-Mosli M, Al Ali M, Khameneh S, 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. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(8):3747-3754. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.3747-3754.2005>

References

1. Kowarsky M, Camunas-Soler J, Kertesz M, De Vlaminc I, Koh W, Pan W, et al. Numerous uncharacterized and highly divergent microbes which colonize humans are revealed by circulating cell-free DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017;114(36):9623-9628. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1707009114>
2. 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(1):92-97. DOI: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7765>
3. Okamoto H. History of discoveries and pathogenicity of TT viruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;331:1-20. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-70972-5_1
4. Miyata H, Tsunoda H, Kazi A, Yamada A, Khan MA, Murakami J, Kamahora T, Shiraki K, Hino S. 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(5):3582-3586. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.73.5.3582-3586.1999>
5. Virus Taxonomy: 2020 Release [Electronic resource]. International Committee on Taxonomy of Viruses [data of access 23 January 2022]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
6. Reshetnyak V, Maev I, Burmistrov A, Chekmazov I, Karlovich T. Torque teno virus in liver diseases: On the way towards unity of view. *World J Gastroenterol*. 2020;26(15):1691-1707. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i15.1691>
7. Spandole S, Cimponeriu D, Berca L, Mihăescu G. Human anelloviruses: an update of molecular, epidemiological and clinical aspects. *Arch Virol*. 2015;160:893-908.
8. Maggi F, Bendinelli M. Immunobiology of the Torque teno viruses and other anelloviruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;331:65-90. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-70972-5_5
9. Schmidt L, Jensen B, Walker A, et al. Torque Teno Virus plasma level as novel biomarker of retained immunocompetence in HIV-infected patients. *Infection* 2021;49:501-509. DOI: <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01573-7>

10. Chen T, Väisänen E, Mattila P, Hedman K, Söderlund-Venermo M. Antigenic diversity and seroprevalences of torque teno viruses in children and adults by ORF2-based immunoassays. *J Gen Virol.* 2013;94:409-417.
DOI: <https://doi.org/10.1099/vir.0.046862-0>

11. Mankotia D, Irshad M. Development of an Immunoassay for Detection of Torque Teno Virus (TTV) Antibodies Using the N22 Expression Product from TTV Genotype 2. *Intervirology.* 2017;60(5):207-216.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000487481>

12. Osipkina OV, Voropaev EV, Mitsura VM, Tereshkov DV, Zyatskov AA, Baranov OYu. Method for molecular diagnostics of TT virus infection: instructions for use. *Gomel;* 2018. 15 p. (in Russ.).

13. Ninomiya M, Takahashi M, Nishizawa T, Shimosegawa T, Okamoto H. Development of PCR Assays with Nested Primers Specific for Differential Detection of Three Human Anelloviruses and Early Acquisition of Dual or Triple Infection during Infancy. *Journal of Clinical Microbiology.* 2008;2(46):507-514.
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01703-07>

14. Hu Y, Al-Moslih M, Al Ali M, Khameneh S, 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. *Journal of clinical microbiology.* 2005;43(8):3747-3754.
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.3747-3754.2005>

Информация об авторах / Information about the authors

Осипкина Ольга Викторовна, заведующий НИЛ, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1931-4224>
e-mail: olga.osipkina@mail.ru

Воропаев Евгений Викторович, к.м.н., доцент, проректор по научной работе, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9435-6109>
e-mail: voropaev.evgenii@gmail.com

Мицюра Виктор Михайлович, д.м.н., доцент, заместитель директора по научной работе, ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»; профессор кафедры инфекционных болезней, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0449-5026>
e-mail: mitsura_victor@tut.by

Терешков Дмитрий Валерьевич, заведующий инфекционным отделением, У «Гомельская областная инфекционная клиническая больница», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1974-5355>
e-mail: tereshkovd@tut.by

Ковалёв Алексей Алексеевич, инженер-программист отдела науки и научно-методической информации, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9148-487X>
e-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Olga V. Osipkina, Head of the Research Laboratory, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: q
e-mail: olga.osipkina@mail.ru

Evgenii V. Voropaev, PhD (Med), Associate Professor, Vice-Rector in charge of scientific work, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9435-6109>
e-mail: voropaev.evgenii@gmail.com

Viktor M. Mitsura, DMedSc, Associate Professor, Deputy Director for Research, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology; Professor at the Department of Infectious Diseases, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0449-5026>
e-mail: mitsura_victor@tut.by

Dmitriy V. Tereshkov, Head of the Infectious Diseases Department, Gomel Regional Clinical Hospital of Infectious Diseases, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1974-5355>
e-mail: tereshkovd@tut.by

Alexey A. Kovalev, software engineer of the Department of Science and Scientific and Methodical Information, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9148-487X>
e-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Осипкина Ольга Викторовна
e-mail: olga.osipkina@mail.ru

Olga V. Osipkina
e-mail: olga.osipkina@mail.ru

Поступила в редакцию / Received 02.02.2022
Поступила после рецензирования / Accepted 11.02.2022
Принята к публикации / Revised 28.02.2022