

网络出版时间: 2017-7-20 23:55 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170720.2354.004.html

# 荧光定量 PCR 检测献血人员外周血白细胞中人疱疹病毒 DNA

宋晓菲<sup>1,2</sup>, 翁伟<sup>3</sup>, 甘霖<sup>1</sup>, 柳燕<sup>1</sup>

**摘要** 目的 调查献血人员外周血白细胞中 8 种人疱疹病毒的 DNA 分布情况,为我国献血者健康标准要求的完善提供参考性实验数据。方法 收集献血人员外周血标本 427 例,分离外周血白细胞后提取 DNA,使用 Taqman 探针法荧光定量 PCR 检测方法对 8 种疱疹病毒 DNA 的阳性率和病毒载量进行检测。结果 427 例标本中未检测到单纯疱疹病毒 1 型(HSV1)、HSV2、水痘-带状疱疹病毒(VZV)和人疱疹病毒 8 型(HHV-8)的 DNA,EB 病毒(EBV)、人巨细胞病毒(HCMV)、HHV-6、HHV-7 阳性率分别为 51.4%、6.5%、50.6%、21.1%,其中 HCMV、EBV 和 HHV-6 均阳性的标本占 6.5%,EBV 和 HHV-6 均阳性的标本占 25.1%,EBV 与 HHV-7 均阳性的标本占 4.0%,HHV-6 和 HHV-7 均阳性的标本占 6.9%。EBV、HCMV、HHV-6、HHV-7 的病毒载量中位数分别为 559、336、4 683、1 126 gqe/ml 外周血。在不同性别和年龄组中 EBV、HHV-6 和 HHV-7 在三个年龄组中的检出率差异无统计学意义,但 CMV 的检出率随年龄的增加逐渐升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。市区与郊区人群相比 EBV、HCMV、HHV-6 和 HHV-7 的检出率均显著较低( $OR = 0.657, 0.798, 0.889, 0.721$ , 95%  $CI: 0.147 \sim 2.451, 0.224 \sim 2.196, 0.221 \sim 2.703, 0.194 \sim 2.445$ ,  $P < 0.05$ )。结论 在献血人员外周血白细胞中可以检出多种疱疹病毒 DNA,提示我国献血者健康标准要适时考虑献血者疱疹病毒感染的情况。

**关键词** 人疱疹病毒;血源性感染;荧光定量 PCR;分子检测中图分类号 R 55;R 373.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1275-05  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.004

人疱疹病毒(human herpesviruses, HHVs)分为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  三个亚科。 $\alpha$  亚科包括单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus 1, HSV1)、HSV2 和水痘-带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV); $\beta$  亚科包括人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)、

HHV-6 和 HHV-7; $\gamma$  亚科包括 EB 病毒(Epstein-barr virus, EBV)和 HHV-8。一旦感染 HHVs,病毒将终生存在机体中不会被清除。虽然成分输血可以降低输血传播亲淋巴细胞性病毒的风险,但输血相关的感染仍倍受临床关注,尤其是在免疫系统不成熟(早产儿和新生儿)或缺陷(移植受者和艾滋病患者)的患者中<sup>[1-3]</sup>。目前我国献血者健康检查要求(GB18467-2011)中没有关于疱疹病毒核酸检测的要求,该研究通过荧光定量 PCR 检测献血人员外周血淋巴细胞中 8 种 HHVs 的 DNA,以期进一步了解献血人员中疱疹病毒感染情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 标本来源** 选取无锡市红十字中心血站 2014 年 10 月~2015 年 10 月符合《献血者健康检查要求》(GB18467-2011)的无偿献血人员 247 例,填写包括年龄、性别、长期居住地和婚姻状况的表格,每人收集枸橼酸钠抗凝血 5 ml,冷藏保存 4 h 内送至实验室分离外周血淋巴细胞。

**1.1.2 主要试剂和仪器** 人外周血白细胞分离试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 5.0 和 MiniBEST Plasmid Purification Kit Ver. 4.0、PCR 引物和探针购自大连宝生物公司;LightCycler® TaqMan® Master、Lightcycler 480 荧光定量 PCR 仪购自美国罗氏公司;NanoDrop 2000 超微量分光光度计购自美国赛默飞公司;Allegra X-12 离心机购自美国贝克曼库尔特公司;TOPO TA-HSV1-gD 质粒(GenBank: X14112;碱基对位置:138419~139603)、TOPO TA-HSV2-gG 质粒(GenBank: JN561323;碱基对位置:137882~139981)、TOPO TA-VZV-ORF29A 质粒(GenBank: X04370;碱基对位置:50857~54471)、TOPO TA-EBV-EBNA1 质粒(GenBank: V01555;碱基对位置:47878~47999)、TOPO TA-HCMV-pp65 质粒(GenBank: FJ527563;碱基对位置:120309~121994)、TOPO TA-HHV-6-U90 质粒(GenBank: AB021506;碱基对位置:137810~

2017-05-03 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81571963)

作者单位:<sup>1</sup> 安徽医科大学微生物学教研室,合肥 230032<sup>2</sup> 无锡市红十字中心血站检验科,无锡 214021<sup>3</sup> 无锡市第二人民医院检验科,无锡 214002

作者简介:宋晓菲,女,主管检验师,硕士研究生;

柳燕,女,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: yliu16888@163.com

138085)、TOPO TA-HHV-7-U100 质粒 (GenBank: NC\_001716; 碱基对位置: 140249 ~ 140254)、TOPO TA-HHV-8-ORF50 质粒 (GenBank: KP265674; 碱基对位置: 68061 ~ 69103) 由安徽医科大学微生物学教研室保存。

1.2 方法

1.2.1 外周血白细胞分离 外周血白细胞分离按照人外周血白细胞分离试剂盒说明进行,具体步骤为将抗凝血用等体积 PBS 稀释,取 5 ml 分离液,加入 15 ml 离心管中,再取 5 ml 稀释后全血沿管壁缓慢加至分离液上层,水平转子室温 1 000 r/min 离心 20 min,吸取白膜层细胞转移至新的 15 ml 离心管中,加入 10 ml 洗涤液,水平转子室温 500 r/min 离心 10 min,重复洗涤 1 次,弃去上清液,收集白细胞。

1.2.2 DNA 提取 DNA 提取参照 Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 5.0 试剂盒说明书进行,提取后的 DNA 通过 NanoDrop 2000 超微量分光光度计定量后保存于 -80 °C 备用。

1.2.3 荧光定量 PCR 检测 荧光定量 PCR 检测采用 Taqman 探针法,分别检测 HSV1 gD 基因、HSV2 gG 基因、VZV ORF29A 基因、EBV EBNA1 基因、HCMV pp65 基因、HHV-6 U90 基因、HHV-7 U100 基因、HHV-8 ORF50 基因,以包含相应疱疹病毒完整

基因的 TOPO TA 克隆质粒建立标准曲线。具体方法为提取质粒定量后计算 8 种质粒的拷贝数,用 TE 缓冲液将所有质粒做连续 6 次 10 倍稀释 ( $10^0 \sim 10^5$  copies/ $\mu$ l),以质粒的拷贝数作为病毒基因组相当量 (genome equivalents, geq),用从正常 MRC-5 细胞提取的 DNA 溶液 (1  $\mu$ g/ $\mu$ l) 作为阴性对照。荧光定量 PCR 体系的特异性和敏感性分析方法为将 8 种克隆质粒混合后用从 MRC-5 细胞中提取的 DNA 作为基质液进行稀释,稀释方式为将一种质粒做连续 6 次 10 倍稀释 ( $10^0 \sim 10^5$  copies/ $\mu$ l),其余 7 种质粒的浓度均保持在  $10^5$  copies/ $\mu$ l,所有稀释后的样品中从 MRC-5 细胞提取的 DNA 浓度均为 1  $\mu$ g/ $\mu$ l。依次用相应疱疹病毒引物和探针进行荧光定量 PCR 检测,分析是否存在交叉反应 (特异性) 以及每种疱疹病毒检测体系的最低检测拷贝数 (敏感性),引物和探针序列见表 1。荧光定量 PCR 反应体系按照 LightCycler® TaqMan® Master 说明书配制,模板 DNA 的用量为 1  $\mu$ g,用 H<sub>2</sub>O 补足总体积至 20  $\mu$ l,每份标本设立 3 个检测复孔。反应条件为 95 °C 预变性 10 min,随后进行 40 个循环 95 °C 变性 10 s,退火 10 s,72 °C 延伸 5 s,最后 40 °C 冷却 30 s。

1.2.4 病毒载量计算 病毒载量用病毒基因组相当量/ml 外周血 (gqe/ml) 表示。标本中外周血白细

表 1 本研究中所使用的探针和引物

病毒	基因	引物序列	产物大小 (bp)
HSV-1	gpD	上游: 5'-ATACCGACCACACCGACGA-3'	102
		下游: 5'-ACAACCTCCCTAACCCCTGCT-3'	
		探针: TET-AGGGGCCATTTTACGAGGAGGA-BHQ	
HSV-2	gpG	上游: 5'-TTCCCCCGTGGCTCAATATT-3'	99
		下游: 5'-ACGCGCCGGGGCAGGTCT-3'	
		探针: ROX-TTATGCCTATCCCCGGTTGGACGA-BHQ	
VZV	29A	上游: 5'-GGCGGAACTTTCGTAACCAA-3'	66
		下游: 5'-CCCCATTAACAGGTCAACAAAA-3'	
		探针: FAM-TCCAACCTGTTTTGCGGCGGC-BHQ	
EBV	EBNA1	上游: 5'-CCA AGA AGG TGG CCC AGA-3'	120
		下游: 5'-CCT GCC TCC ATC ACC CTG-3'	
		探针: FAM-CCGCAGATGACCCAGGAGAAGGCC-TAM	
HCMV	pp65	上游: 5'-TCGCGCCCGAAGAGG-3'	57
		下游: 5'-CGGCCGATTGTGGATT-3'	
		探针: ROX-CACCGACGAGGATTCCGACAACG-BHQ	
HHV-6	U90	上游: 5'-CCTTATTGGGATGGTAAACACT-3'	219
		下游: 5'-TCAGAGAGTGAAGATGAAGAGGA-3'	
		探针: FAM-TATTAAGATTGAGTTACCAATAATATTGTCA-BHQ	
HHV-7	U100	上游: 5'-ATGTACCAATACGGTCCCACTTG-3'	100
		下游: 5'-AGAGCTTGCCTGTGCATGTT-3'	
		探针: ROX-AGCACGCACGGCAATAACTCTAGAAG-BHQ	
HHV-8	ORF50	上游: 5'-TCCCCTGAGCCAGTTTGTGTC-3'	100
		下游: 5'-AATAAACGCCGGTCTGTACC-3'	
		探针: FAM-AACATGCCGCACACCGTCAG-BHQ	

胞的数量采用 MGB 探针法荧光定量 PCR 检测 CD81 外显子 5 (Exon5) 来确定,因为 CD81 在一个细胞存在两个单倍体,因此选其作为测定外周血白细胞数量的标志物<sup>[4]</sup>。荧光定量 PCR 所使用的上游引物为 CD81 exon 5-F: 5'-CCAGCACACTGACT-GCTTTGA-3';下游引物为 CD81 exon 5-R: 5'-GC-CCGAGGGACACAAATTG-3'; CD81 exon 5-MGB probe: 5'-CACCTCAGTGCTCAAG-3'。每毫升人外周血约含有  $7 \times 10^6$  个外周血白细胞,因此最终可将结果换算为 gqe/ml 外周血。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,HHVs DNA 检出率与人口统计变量之间的相关性通过 OR 值进行评价,不同组间百分比的比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。荧光定量 PCR 标准曲线通过 Excel 软件进行线性回归分析,计算每种病毒载量的中位数。

**2 结果**

**2.1 荧光定量 PCR 体系的建立** 针对 8 种 HHVs 建立的 Taq 探针法荧光定量 PCR 检测方法标准曲线均具有很好的线性关系 ( $r^2 > 0.98$ );检测体系特异性高,互相无交叉反应。8 个 HSV-1、HSV-2、VZV、EBV、HCMV、HHV-6、HHV-7、HHV-8 检测体系的最低检测限分别为:10、10、10、1、1、5、10、1 gqe。见图 1。

**2.2 8 种 HHVs 的检出率和病毒载量** 本研究结果显示 427 例献血人员外周血白细胞中未检测到 HSV1、HSV2、VZV 和 HHV-8 的 DNA,EBV 阳性 127 (51.4%) 例,HCMV 阳性 16 (6.5%) 例,HHV-6 阳性 125 (50.6%) 例,HHV-7 阳性 52 (21.1%) 例,HCMV 阳性的 16 例标本同时 EBV 和 HHV-6 也阳性

(6.5%),EBV 和 HHV-6 均阳性 62 (25.1%) 例,EBV 与 HHV-7 均阳性 10 (4.0%) 例,HHV-6 和 HHV-7 均阳性 17 (6.9%) 例,见表 2。

EBV、HCMV、HHV-6、HHV-7 的病毒载量中位数分别为:559 gqe/ml 外周血(71 ~ 571) 420 gqe/ml

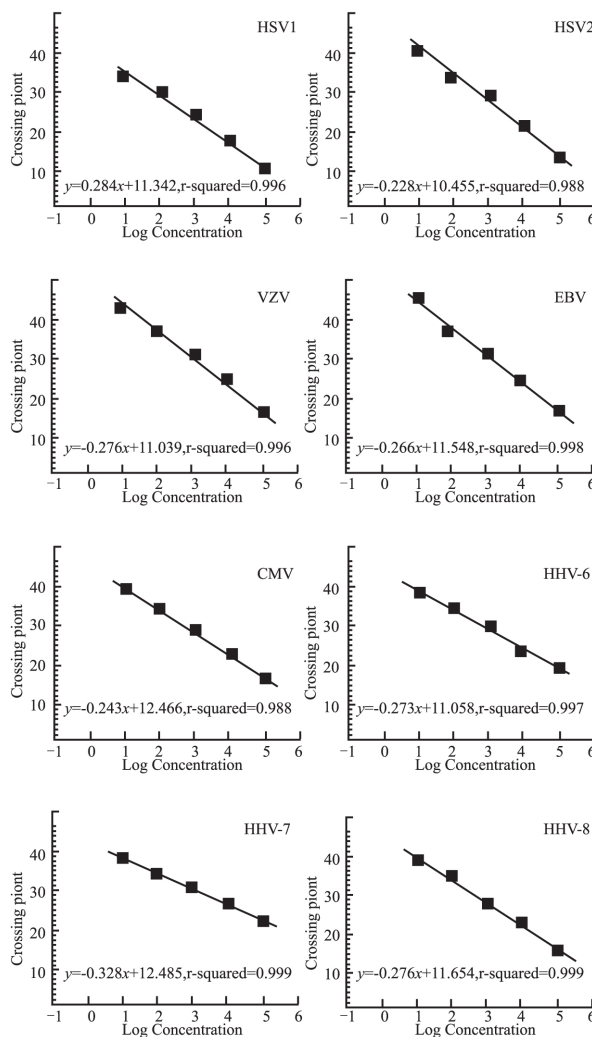


图 1 8 种 HHVs 荧光定量 PCR 检测体系的标准曲线

表 2 HHVs 检出率与性别、居住地和年龄的关系

项目	n	EBV			HCMV			HHV-6			HHV-7		
		阳性[n(%)]	$\chi^2$ 值	P 值	阳性[n(%)]	$\chi^2$ 值	P 值	阳性[n(%)]	$\chi^2$ 值	P 值	阳性[n(%)]	$\chi^2$ 值	P 值
性别			0.234	0.806		0.173	0.445		0.920	0.445		0.217	0.787
男	176	91 (51.7)			11 (6.3)			89 (50.6)			37 (21.0)		
女	71	36 (50.7)			5 (7.0)			36 (50.7)			15 (21.1)		
居住地			5.991	0.023		4.778	0.033		5.042	0.025		6.574	0.015
市区	152	65 (42.8)			9 (5.9)			73 (48.0)			28 (18.4)		
郊区	95	62 (65.3)			7 (7.4)			52 (54.7)			24 (25.3)		
年龄(岁)			0.487	0.458		4.050	0.041		0.374	0.611		0.295	0.147
18~28	84	44 (52.4)			3 (3.6)			43 (51.2)			16 (19.0)		
29~39	92	47 (51.1)			6 (6.5)			46 (50.0)			21 (22.8)		
40~50	71	36 (50.7)			7 (9.9)			36 (50.7)			15 (21.1)		
总阳性	247	127 (51.4)			16 (6.5)			125 (50.6)			52 (21.1)		

外周血)、336 gqe/ml 外周血(95 ~ 947 624 gqe/ml 外周血)、4 683 gqe/ml 外周血(204 ~ 6 578 925 gqe/ml 外周血)、1 126 gqe/ml 外周血(183 ~ 64 172 gqe/ml 外周血)。

通过 OR 值分析显示市区与郊区人群相比 EBV、HCMV、HHV-6 和 HHV-7 均显著较低 ( $OR = 0.657, 0.798, 0.889, 0.721$ , 95%  $CI: 0.147 \sim 2.451, 0.224 \sim 2.196, 0.221 \sim 2.703, 0.194 \sim 2.445$ ,  $P < 0.05$ )。

在不同性别和年龄组中 EBV、HHV-6 和 HHV-7 的检出率差异无统计学意义,但 HCMV 的检出率随年龄的增加逐渐升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

HHVs 感染在人群中普遍存在,原发感染多发生在婴幼儿时期,一旦感染终生潜伏在机体中,不引起临床症状,但在免疫功能低下时,潜伏的病毒可能再激活。临床常见造血干细胞或固体器官移植后 EBV、HCMV、HHV-6 和 HHV-7 的再激活,感染患者的 T、B 淋巴细胞,进一步损伤免疫系统,引起病毒性脑炎和间质性肺炎等并发症<sup>[5]</sup>。有报道<sup>[6]</sup>显示 HCMV 抗体阴性 DNA 检测阳性的急性感染期献血者可以将病毒传播给接受输血者并引起感染。鉴于 HHVs 感染在免疫功能正常的人群大多没有症状,而在某些情况下(如免疫力低下等)又可能会引起严重的后果。因此,关于通过输入疱疹病毒持续性感染供血者的血液而将病毒传播给易感或免疫力低下接受输血者的问题一直备受临床关注。目前 HCMV 在输血或移植供者和受者之间的传播已经有了较详细的研究结果,但对于其他疱疹病毒还没有系统的研究。在本研究中,通过荧光定量 PCR 检测了献血人员外周血白细胞中 8 种 HHVs 的 DNA。

由于 HSV1、HSV2 和 VZV 具有神经细胞嗜性,主要潜伏于神经节中,白细胞中通常不能检出其 DNA。在本研究中未检测出 HSV1、HSV2、VZV 和 HHV-8 的 DNA,这与国外的报道<sup>[7]</sup>一致。临床对输血引起的 HCMV 在免疫低下患者中传播很关注,因此献血人员血液中 HCMV 的检测已有较多的报道,然而 HCMV DNA 的检出率具有明显的地域差异,在发达国家阳性率均低于 3%<sup>[7]</sup>,而在部分发展中国家阳性率达到 19 ~ 33%<sup>[8]</sup>。在本研究中 HCMV 的检出率为 6.5%,检出率随年龄的增加逐渐增加,这与日本近期的一项研究<sup>[9]</sup>结果相近,在该研究中 60

岁以下人群 HCMV 检出率仅为 1.0%,60 岁以上人群检出率为 4.3%,病毒载量中位数为 970 gqe/ml 外周血,本研究结果与之一致。在世界范围内 EBV 的感染均比较普遍,血清阳性率达到 96%。在本研究中 EBV DNA 的检出率为 51.4%,与国内其他地区 EBV DNA 的检出率一致<sup>[10]</sup>。本研究中 HHV-6 DNA 的检出率为 50.6%,国外近期的研究<sup>[7]</sup>显示在欧洲正常人群中 HHV-6 DNA 的检出率为 36%,我国南京地区献血人员 HHV-6 DNA 的检出率为 49.1%,本研究结果与之非常接近<sup>[10]</sup>。本研究中部分标本 HHV-6 的病毒载量非常高,可达  $6.6 \times 10^6$  gqe/ml 外周血,几乎每个外周血白细胞均含有 1 个 gqe。国外的多项报道<sup>[11]</sup>中也显示高病毒载量的健康人,HHV-6 的 DNA 已整合到 WBC DNA 上。HHV-7 世界范围内血清阳性率与 EBV 接近达到 90%以上,早期的研究中未能从正常人 WBC 中检出 HHV-7 DNA,随着荧光定量 PCR 等检测手段的应用,HHV-7 DNA 逐渐被检测出来,阳性率可达到 50%以上<sup>[12]</sup>,本研究中 HHV-7 DNA 的检出率为 21.1%。HHV-8 感染与卡波济肉瘤发病相关,该病毒流行具有地域性,在我国主要在新疆自治区的维吾尔族人群中多见,艾滋病患者中出现并发 HHV-8 感染也较为常见,约为 30%<sup>[13]</sup>。多项报道<sup>[14-15]</sup>显示在正常献血人群 WBC 中未能检出 HHV-8 DNA,在本研究中也未检出。总体来看无锡地区献血人群中 HHVs DNA 的检出率无性别差异,但郊区人群的检出率显著高于市区人群, HCMV 的检测率具有年龄差异,随年龄增加检出率升高。此外,还出现混合感染的情况,所有 HCMV 阳性的标本也同时检出了 EBV 和 HHV-6, 25.1% 的标本可以同时检出 EBV 和 HHV-6, 4.0% 的标本可以同时检出 EBV 与 HHV-7, 6.9% 的标本可以同时检出 HHV-6 和 HHV-7。

虽然成分输血的应用已经大大降低了 HCMV、EBV 和 HHV-8 的传播,但仍有报道<sup>[7]</sup>显示存在血源性 HHV-6 传播。因此,献血人员进行疱疹病毒感染检测对防止血源性传播有必要性,也希望科研部门进一步进行相关研究,以便对建立献血人员健康检查标准有更好的指导作用。

### 参考文献

- [1] Bohórquez S P, Díaz J, Rincón C M, et al. Shedding of HSV-1, HSV-2, CMV, and EBV in the saliva of hematopoietic stem cell transplant recipients at Fundación HOMI-Hospital de la Misericor-

- dia, Bogotá, D. C. [J]. *Biomedica*, 2016, 36(0):201–10.
- [2] Rawlinson W D, Hamilton S T, van Zuylen W J. Update on treatment of cytomegalovirus infection in pregnancy and of the newborn with congenital cytomegalovirus [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2016, 29(6):615–24.
- [3] Slyker J A. Cytomegalovirus and paediatric HIV infection [J]. *J Virus Erad*, 2016, 2(4):208–14.
- [4] Matsumoto C, Igarashi M, Furuta R A, et al. Xenotropic murine leukemia virus-related virus proviral DNA not detected in blood samples donated in Japan [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2012, 65(4):334–6.
- [5] Morscio J, Tousseyn T. Recent insights in the pathogenesis of post-transplantation lymphoproliferative disorders [J]. *World J Transplant*, 2016, 6(3):505–16.
- [6] Drew W L, Tegtmeier G, Alter H J, et al. Frequency and duration of plasma CMV viremia in seroconverting blood donors and recipients [J]. *Transfusion*, 2003, 43(3):309–13.
- [7] Rouka E, Kyriakou D. Molecular epidemiology of human herpesviruses types 1-6 and 8 among greek blood donors [J]. *Transfus Med*, 2015, 25(4):276–9.
- [8] Bolarinwa R A, Donbraye E, Ademosu A A, et al. Prevalence and associated characteristics of cytomegalovirus (CMV) immunoglobulin antibodies among blood donors at a university teaching hospital in Nigeria [J]. *East Afr Med J*, 2014, 91(11):385–90.
- [9] Furui Y, Satake M, Hoshi Y, et al. Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in Japanese blood donors and high detection frequency of CMV DNA in elderly donors [J]. *Transfusion*, 2013, 53(10):2190–7.
- [10] 李明月, 沈曦月, 周帅, 等. 巢式聚合酶链反应检测人疱疹病毒在人群中的感染情况 [J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(19):2777–81.
- [11] Clark D A. Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2016, 22(4):333–9.
- [12] Géraudie B, Charrier M, Bonnafous P, et al. Quantitation of human herpesvirus-6A, -6B and -7 DNAs in whole blood, mononuclear and polymorphonuclear cell fractions from healthy blood donors [J]. *J Clin Virol*, 2012, 53(2):151–5.
- [13] Feiterna-Sperling C, Königs C, Notheis G, et al. High seroprevalence of antibodies against Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) among HIV-1-infected children and adolescents in a non-endemic population [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2016, 205(5):425–34.
- [14] Ben Fredj N, Rotola A, Nefzi F, et al. Identification of human herpesviruses 1 to 8 in Tunisian multiple sclerosis patients and healthy blood donors [J]. *J Neurovirol*, 2012, 18(1):12–9.
- [15] Levi J E, Nascimento M C, Sumita L M, et al. Non-detection of human herpesvirus 8 (HHV-8) DNA in HHV-8-seropositive blood donors from three Brazilian regions [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23546.

## Detection of human herpesvirus DNA in peripheral white blood cells of blood donors by real-time PCR

Song Xiaofei<sup>1,2</sup>, Weng Wei<sup>3</sup>, Gan Lin<sup>1</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Microbiology, Anhui Medical University, Hefei 230032; <sup>2</sup>Dept of Clinical Laboratory, Wuxi Red Cross Blood Center, Wuxi 214021; <sup>3</sup>Dept of Clinical Laboratory, Wuxi No. 2 People's Hospital, Wuxi 214002)

**Abstract Objective** To investigate the prevalence of 8 kinds of human herpes viruses (HHVs) DNA in the peripheral white blood cells of blood donors. **Methods** The prevalence and viral DNA load of white blood cells (WBCs) collected from 427 cases randomly selected blood donors were determined. A set of real-time polymerase chain reaction assays was used for detection and quantification of all 8 HHVs. **Results** HSV-1, HSV-2, VZV and HHV-8 DNA were not detected in any donor sample. EBV, HHV-6 and HHV-7 and HCMV were detected in 51.4%, 50.6%, 21.1% and 6.9% of samples, respectively. CMV, EBV and HHV-6 were simultaneously detected in 6.5% of samples. EBV and HHV-6 were simultaneously detected in 25.1% of samples. EBV and HHV-6 were simultaneously detected in 4.0% of samples. HHV-6 and HHV-7 were simultaneously detected in 6.9% of samples. Median viral loads of positive samples (per milliliter of blood) is 559 pge/ml for EBV, 336 pge/ml for HCMV, 4 683 pge/ml for HHV-6 and 1 126 pge/ml for HHV-7. The DNA prevalence of EBV, HHV-6 and HHV-7 were not associated with gender and age, but HCMV DNA prevalence was significantly associated with age. EBV, HCMV, HHV-6 and HHV-7 DNA prevalence were significantly associated with rural residency. **Conclusion**

Several HHVs DNA are commonly detected in whole blood samples of blood donors. It is suggested that HHVs infection should be considered when formulating health standards for blood donors in China.

**Key words** human herpesviruses; blood-borne infections; Real-time PCR; molecular testing