

Badania technikami biologii molekularnej wirusów zapalenia wątroby typu B i typu C oraz ludzkiego wirusa niedoboru odporności w pulach składających się z 6 próbek od dawców, bez względu na wyniki serologicznych badań przeglądowych i wyniki aktywności aminotransferazy alaninowej

Molecular biology techniques for testing hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus in 6-donation pools regardless of serological test results and alanine aminotransferase values

Elżbieta Ćwikowska, Izabela Michalczak, Karolina Stasik-Pierechod,
Danuta Pruszkowska, Barbara Wyrwińska, Małgorzata Szafran

Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Gdańsku

Streszczenie

Wstęp: *W jednostkach polskiej służby krwi badania przeglądowe technikami biologii molekularnej (NAT) w kierunku zakażeń HCV, HIV i HBV są wykonywane w pojedynczych donacjach lub w pulach po 6 donacji. Celem tego typu badań jest identyfikacja zakażonych dawców, gdy nieobecne są markery serologiczne — w szczególności we wczesnym okresie zakażenia. Dotychczas pule osocza do badań NAT były przygotowywane tylko z donacji seronegatywnych i z wynikami aktywności aminotransferazy alaninowej ALAT w granicach normy. Celem prezentowanej pracy była analiza badań NAT w pulach od kolejnych dawców bez względu na wyniki badań serologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem częstości wyników niepotwierdzających się, zużycia odczynników oraz czasu potrzebnego do zwolnienia donacji.*

Materiał i metody: *W okresie od 19 sierpnia 2008 roku do 28 lutego 2009 roku przebadano 22 794 (3799 pul) donacji ujemnych w serologicznych badaniach przeglądowych oraz z ALAT w granicach normy (algorytm 1). Kolejne 6264 próbki (1044 pule) badano równolegle metodami serologicznymi oraz NAT (algorytm 2). W obu przypadkach badania NAT wykonywano w pulach osocza po 6 donacji testem Cobas TaqScreen MPX, stosując system cobas s 201.*

Wyniki: *W badaniach przeprowadzonych równolegle metodami serologicznymi i NAT uzyskano 12 pul dodatnich na 1044 przebadane pule (1,1%). Wszystkie pozytywne próbki pochodziły od dawców pierwszorazowych, u których jednocześnie wykryto markery serologiczne. W pozostałych próbkach, dla których otrzymano wyniki dodatnie testów serologicznych (6 HBsAg, 11 anty-HCV, 3 HIV Ag/Ab) lub, w których stwierdzono aktywność ALAT powyżej*

normy ($n = 105$), nie wykryto markerów molekularnych. W analizowanym okresie nie zidentyfikowano u żadnego dawcy zakażenia w tak zwanym okienku serologicznym HCV, HBV, HIV ani ukrytego zakażenia.

Wnioski: Prowadzenie badań według algorytmu 2 nie spowodowało statystycznie istotnego zwiększenia wyników niepowtarzalnie dodatnich NAT w porównaniu z okresem, w którym wykonywano te badania za pomocą algorytmu 1, jednak zużyto około 12,7% odczynników więcej. Dla jednostki służby krwi wydatki zwolnienia donacji nie uległy zwiększeniu, gdyż całkowite koszty odczynników pokrywał dostawca. Zastosowanie algorytmu 2 umożliwiło znaczne skrócenie czasu zwalniania większości donacji.

Słowa kluczowe: dawca krwi, donacja, pule osocza, markery serologiczne, badania technikami biologii molekularnej (NAT), RNA HCV, RNA HIV, DNA HBV

J. Transf. Med. 2010; 2: 55-61

Summary

Background: In Polish Blood Banks molecular biology techniques (NAT) for testing hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) are performed either in individual blood donations or in six-donation pools. The aim of such screening is to identify infected donors when serological markers cannot yet be detected, especially in the early infection period. Until now, pooled plasma samples for NAT testing were prepared only from sero-negative donations with AIAT values within normal range. The aim of this study was to analyze NAT testing in consecutive donor pools regardless of the serological test results. Special emphasis was put on the frequency of non-confirmed results, the reagents consumption as well as time required for donation release.

Material and methods: Within the six-month period (19.08.2008 to 28.02.2009), we tested 22,794 donations (3799 pools) negative in serological screening tests; AIAT values within normal range (algorithm 1). Another 6,264 samples (1044 pools) were tested simultaneously with serological methods and NAT techniques (algorithm 2). In both algorithms, NAT analyses were performed in six-donation plasma pools using the Cobas TaqScreen MPX in the cobas s 201 system.

Results: Twenty positive pools were found in the 1044 (1.1%) donation-pools tested simultaneously by NAT and serological methods. All NAT positive samples were detected in first time donors with positive results of serological markers. In the remaining samples, no molecular markers were detected either in sero positive (6 HBsAg, 11 anti-HCV, 3 HIV Ag/Ab) samples or in samples with AIAT values above reference range ($n = 105$). No donors within serological window for HCV, HBV, HIV or with occult infection were identified in this study period.

Conclusions: Testing/screening performed according to algorithm 2 demonstrated no statistically significant increase of unrepeatable NAT positive results as compared to the period when testing/screening was performed according to algorithm 1, however more reagents were used (by about 12.7 %). The entire costs of reagents were covered by the Supplier therefore the blood bank expenditures for donation release did not increase and algorithm 2 allowed for accelerated release of most donations.

Key words: blood donors, donation, pooled plasma samples, serological markers, nucleic acid testing (NAT), RNA HCV, RNA HIV, DNA HBV

J. Transf. Med. 2010; 2: 55-61

Wstęp

W jednostkach organizacyjnych polskiej służby krwi badania przeglądowe technikami biologii molekularnej (NAT, *nucleic acid tests*) na obecność RNA HCV, RNA HIV i DNA HBV mogą być wykonywane w zlanych w pule próbkach od wielu dawców lub w pojedynczych donacjach [1]. Badania w pojedynczych donacjach można wykonywać u kolejnych dawców, bez względu na wyniki serologicznych badań przeglądowych i wyniki aktywności aminotransferazy alaninowej (ALAT, *alanine aminotransferase*). Badania w „pulach” osocza przeprowadza się dopiero po uzyskaniu wyników badań testami serologicznymi wykrywającymi przeciwciała anty-HCV, HIV Ag/Ab, antygen HBs, kiłę i ALAT, a w „pule” łączy się tylko donacje z ujemnymi wynikami badania tych markerów. Algorytm ów wprowadzono ze względu na to, że prawdopodobieństwo wykrycia markerów metodami molekularnymi w donacjach seropozytywnych lub tych z podwyższoną aktywnością ALAT jest wyższe niż w donacjach bez tych markerów [2–4]. Taka procedura została przyjęta w czasie, gdy pule przygotowywano z 48 (2001–2004), a potem z 24 donacji (2004–2005). Przyjęty algorytm zakłada, że po uzyskaniu dodatniego wyniku NAT w puli należy wstrzymać wszystkie wchodzące w jej skład donacje, aż do wyjaśnienia, która z nich zawiera materiał genetyczny wirusa/ów.

Częstość wykrywania markerów serologicznych u dawców w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w Gdańsku w roku 2008 wynosiła ogółem 0,342%, w tym u dawców pierwszorazowych — 0,887%, a dla dawców wielokrotnych — 0,017% (tab. 1). Częstości te należą do jednych z najniższych w Polsce [5–7]. Z tego względu uznano za zasadne przeanalizowanie możliwości wykonywania badań NAT w zlanych w pule po 6 próbek od kolejnych dawców, bez względu na wyniki badań serologicznych. W pracy przeanalizowano:

- czy przyjęty algorytm wpłynie na częstość wyników niepotwierdzających się;
- w jakim stopniu zwiększy się zużycie odczynników;
- czy i w jakim stopniu nowy algorytm przyspieszy wydawanie wyników i zwalnianie donacji do użytku.

Materiał i metody

W okresie od 19 sierpnia 2008 roku do 28 lutego 2009 roku badania NAT przeprowadzano w RCKiK, stosując dwa algorytmy badań:

Tabela 1. Częstość wykrycia markerów serologicznych u dawców w RCKiK w Gdańsku (2008 r.)

Table 1. Frequency of serological marker detection in donors in RCKiK, Gdansk (2008)

Dawcy	HBsAg	anty-HCV	HIV Ag/Ab
Wszyscy	0,258%	0,073%	0,011%
Pierwszorazowi	0,690%	0,197%	0,000%
Wielokrotni	0,000%	0,000%	0,017%

- w części donacji wykonywano badania serologiczne, a po uzyskaniu wyników przystępowano do badań molekularnych, analizując obecność materiału genetycznego HCV, HBV i HIV w zlanych w pule próbkach osocza bez markerów serologicznych;
- w pozostałych badaniach NAT wykonywano w zlanych w pule po 6 próbek od kolejnych dawców. Badania przy użyciu algorytmu 2 nastawiano dwa razy w tygodniu — w środę i w piątek. Przebadano 6264 donacji pozyskanych od dawców pierwszorazowych (21%) i wielokrotnych (79%), co stanowiło 27% z 29 058 donacji pobranych w tym okresie. Każdego dnia rano rozpoczynano analizę 108 próbek (18 pul) pobranych od dawców w dniu poprzednim.

Wszystkie badania NAT wykonywano w pulach osocza składających się z 6 donacji testem Cobas TaqScreen MPX wykrywającym HIV-1 grupa M, HIV-1 grupa O, HIV-2, HCV i HBV. Badania przeprowadzono na automatycznym systemie cobas s 201 zgodnie z procedurą podaną przez producenta [8]. Badania identyfikacji i weryfikacyjne wykonywano w laboratorium referencyjnym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii.

Wyniki

Częstość wykrywania materiału genetycznego HCV, HBV i HIV w trakcie badania próbek z użyciem algorytmu 2

Wyniki badań prowadzonych według algorytmów 1 i 2 przedstawiono w tabeli 2.

Wyniki dodatkowo uzyskano dla 12 pul, co stanowi 1,1% z 1044 pul przebadanych zgodnie z algorytmem 2. Badanie identyfikacji dodatniej donacji w puli przeprowadzono tego samego dnia w godzinach popołudniowych bez nadzoru operatora, wykorzystując pełną automatyzację systemu cobas s 201. Wyniki odczytywano następnego dnia rano. Donacje ujemne (60) wchodzące w skład reaktyw-

Tabela 2. Wyniki badań z zastosowaniem algorytmu 1 i 2**Table 2.** Results obtained with algorithm 1 and 2

	Algorytm 1 Badania markerów molekularnych wykonywane po badaniach markerów serologicznych i AIAT	Algorytm 2 Badania markerów serologicznych i AIAT oraz badania molekularne wykonywane równolegle
Liczba zbadanych donacji:	22 794	6264
— pierwszorazowych	4787	1315
— wielokrotnych	18 007	4949
Liczba puli zbadanych	3799	1044
Liczba puli NAT-dodatnich, w tym:	0 (0,0%)	12 (1,1%)
— donacji NAT-dodatnich	0	12
— donacji NAT-ujemnych	22 794	6252

AIAT — aminotransferaza alaninowa; NAT — techniki biologii molekularnej

Tabela 3. Wyniki przeglądowych badań serologicznych i badań weryfikacyjnych w próbkach NAT-dodatnich**Table 3.** Results of serological screening tests and confirmation tests of NAT-positive samples

Liczba donacji NAT (+)	Wyniki testu przeglądowego — metoda serologiczna		Badania weryfikacyjne w IHiT
	HBsAg+	anty-HCV+	
9	9		Wykryto 9 DNA HBV*
3		3	Wykryto 3 RNA HCV

*w jednej próbce wykryto anty-HCV; w laboratorium referencyjnym nie wykryto w niej RNA HCV; IHiT — Instytut Hematologii i Transfuzjologii; NAT — techniki biologii molekularnej

nych pul zwalniano, a dodatkowo (12) dyskwalifikowano. Wszystkie pozytywne próbki w badaniu NAT pochodziły od dawców pierwszorazowych, u których jednocześnie wykryto markery serologiczne: 9 HBsAg, 3 anty-HCV. W pierwszej próbce DNA HBV dodatniej wykryto również przeciwciała anty-HCV. Wyniki te zostały zweryfikowane i potwierdzone w laboratorium referencyjnym (tab. 3).

W pozostałych 6252 donacjach badanych zgodnie z algorytmem 2 nie wykryto materiału genetycznego wirusów. Wyniki wykonanych równolegle badań serologicznych i badań aktywności AIAT wykazały w 6 próbkach obecność HBsAg, w 11 anty-HCV, w 3 HIV Ag/Ab, a w 105 próbkach aktywność AIAT powyżej normy. Wszystkie badane próbki uzyskały ujemne wyniki w teście przeglądowym w kierunku zakażenia kiłą. Łącznie dodatkowo przebadano 125 donacji oraz 12 donacji (12 pul) reaktywnych w NAT jednocześnie dodatnich w badaniach immunoenzymatycznych. Do identyfikacji tych ostatnich zużyto 144 testy w trakcie rozpulowania. Zużyto zatem (177/1392) 12,7% testów więcej niż gdyby stosowano algorytm 1. Całkowita

liczba testów zawierała oznaczenia kontroli niezbędnych do przeprowadzenia badań.

Wyniki badań weryfikacyjnych prowadzonych w RCKiK lub/i w IHiT nie potwierdziły obecności wirusów HBV, HCV, HIV (tab. 4).

Analiza częstości wyników fałszywie pozytywnych w teście Cobas TaqScreen MPX podczas pracy z zastosowaniem algorytmu 1 i 2

W 2008 roku podczas badań NAT donacji bez markerów serologicznych częstość wyników fałszywie pozytywnych wynosiła 0,11% (13 pul na 11 423 przebadane pule) (tab. 5). Natomiast w donacjach badanych równolegle z markerami serologicznymi uzyskano początkowo reaktywny wynik NAT dla 3 pul, co stanowi 0,29% przebadanych pul.

Przeprowadzono analizę statystyczną różnic częstości występowania wyników początkowo dodatnich, a niepotwierdzonych w pojedynczych donacjach. W analizie przeprowadzonej testem χ^2 uzyskano wartość: 1,249 ($p = 0,2637$), co wskazuje na brak istotności statystycznej obserwowanych różnic.

Tabela 4. Analiza wyników badań weryfikacyjnych (molekularnych i serologicznych) próbek, w których w RCKiK wykryto markery serologiczne, a nie wykryto materiału genetycznego HCV, HBV i HIV testem Cobas TaqScreen MPX**Table 4.** Analyses of confirmed test results (molecular and serological) in samples with detected serological markers but with no positive results for HCV, HBV and HIV obtained with Cobas TaqScreen MPX test in the RCKiK

Liczba próbek z dodatnim wynikiem testu przeglądowego (IR) — metoda serologiczna	Wynik powtórnego testu przeglądowego — metoda serologiczna		Badanie weryfikacyjne dla wyników RR			
	Dodatni/ dodatni (RR)	Ujemny/ ujemny	RCKiK		IHiT	
			Wynik badania NAT w pojedynczej próbce	Wynik testu uzupełniającego lub potwierdzenia	Wynik testu NAT	Wynik testu uzupełniającego lub potwierdzenia
11 próbek anty-HCV +	11	0	10 — TaqScreen MPX — ujemny	Nie badano	10 RNA HCV — nie badano	7 — wynik ujemny w RIBA 3 — wynik wątpliwy w RIBA
			1 — nie badano; przesłano do IHiT	Nie badano	1 RNA HCV — nie wykryto	1 — wynik ujemny w RIBA
6 próbek HBsAg +	2	4	2 — TaqScreen MPX — ujemny	2 — wynik ujemny	Nie badano	Nie badano
3 próbki Anty-HIV +	2	1	Nie badano	Nie badano	2 — RNA HIV nie wykryto	2 — ujemne w WB

IR (*initial reaction*) — wstępnie reaktywny; RR (*repeat reaction*) — powtórnie aktywny; RCKiK — Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa; IHiT — Instytut Hematologii i Transfuzjologii; NAT — techniki biologii molekularnej; RIBA — *recombinant immunoblot assay*; WB — *Western blot*

Tabela 5. Częstość wyników fałszywie reaktywnych w teście Cobas TaqScreen MPX w badaniach puli po 6 donacji z użyciem algorytmu 1 i 2**Table 5.** The frequency of false positive results with Cobas TaqScreen MPX performed in pooled samples of 6 donations according to algorithm 1 and 2

Algorytm	Okres badań w 2008 roku	Liczba przebadanych puli	Liczba (odsetek) puli z wynikami niepowtarzającymi się
1	12 miesięcy	11 423	13 (0,11)
2	6 miesięcy	1044	3 (0,29)

Analiza czasu trwania badań za pomocą algorytmu 1 i 2

Wyniki badań przeprowadzanych według algorytmu 2 otrzymywano tego samego dnia, po 6 godzinach. Krew i jej składniki z wynikami ujemnymi NAT i pozostałych markerów dopuszczano do leczenia do godz. 15.00. Czas zwolnienia ujemnych donacji wynosił około 24 godziny od momentu pobrania.

Badania prowadzone według dotychczas stosowanego algorytmu 1 pozwalały na zwalnianie donacji od dawców bez markerów serologicznych po

około 42 godzinach od pobrania, na przykład donacje pobierane we wtorek były zwalniane w czwartek rano.

Dyskusja

Badania NAT w puli po 6 donacji wykonywane równoległe z badaniami markerów serologicznych umożliwiają szybsze dopuszczenie krwi i jej składników do krwiolecznictwa. Czas zwolnienia ujemnych donacji skrócił się o kilkanaście godzin

(ok. 18), co miało szczególne znaczenie dla przygotowania koncentratów krwinek płytkowych.

W analizowanej grupie dla 60 donacji ujemnych z 6264 przebadanych (0,96%) nie osiągnięto skrócenia czasu zwolnienia w porównaniu do algorytmu 1 stosowanego dotychczas. Pozostałe 6204 (99,04%) ujemne donacje zostały zwolnione wcześniej — ponieważ z rozpoczęciem ich badań techniką NAT nie czekano na uzyskanie wyników badaniami serologicznymi.

Liczba wyników reaktywnych w badaniu NAT prowadzonym według analizowanego przez autorki pracy algorytmu 2 jest uzależniona od częstości występowania markerów serologicznych wśród dawców pierwszorazowych. W ostatnich latach obserwuje się spadek częstości wykrywania markerów serologicznych, co powinno wpłynąć na zmniejszenie liczby pul wstępnie reaktywnych w przyszłości [5, 6].

W analizowanym okresie nie wykryto u żadnego dawcy zakażenia w tak zwanym okienku serologicznym HCV, HBV lub HIV ani ukrytego zakażenia. Jest to związane z niskim odsetkiem takich dawców w naszym regionie. W dotychczasowych badaniach NAT prowadzonych przez Pracownię Biologii Molekularnej RCKiK Gdańsk w donacjach bez markerów serologicznych wykryto wirusowy materiał genetyczny w 4 próbkach na 140 000 przebadanych donacji (23 333 pule). Częstość dodatnich wyników NAT w latach 2007–2008 wynosiła dla HBV 1/70 000, HCV 1/70 000, nie zidentyfikowano dawcy zakażonego HIV. Liczba zakażeń HBV i HIV jest niższa niż w innych krajach, na przykład w Tajlandii, gdzie częstość wykrywania wirusów HIV-1, HCV, HBV metodami NAT wynosiła odpowiednio: 1:97 000, 1:49 000 i 1:2 800 [9].

Częstość wyników NAT niepowtarzalnie reaktywnych w badaniu dawców bez markerów serologicznych odpowiada częstości uzyskanej przez producenta podczas badań klinicznych swoistości stosowanego testu (0,12%) [8]. Dane te są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (0,10%) [9]. W badaniach prowadzonych z użyciem nowego, analizowanego w tej pracy algorytmu zaobserwowano dwukrotny wzrost częstości wyników fałszywie pozytywnych w porównaniu z badaniami donacji od dawców bez markerów serologicznych uzyskanej w 2008 roku. Wymienione różnice pomiędzy analizowanymi algorytmami 1 i 2 nie były jednak istotne statystycznie.

Badania NAT w donacjach z ujemnymi wynikami markerów serologicznych stosowano dotychczas w przypadku dużych pul, jak 24, 48 czy 96 [10].

Ewentualny wynik pozytywny wiązał się z wykonaniem dodatkowych badań w minipulach, a następnie w pojedynczych donacjach wchodzących w skład pozytywnej minipuli. Czas przeprowadzenia procesu identyfikacji pozytywnej donacji składającej się z 24 próbek trwał do 48 godzin i powodował zatrzymanie 23 donacji ujemnych wchodzących w skład puli głównej. Obecnie, gdy badania prowadzone są w puli z 6 donacji i po otrzymaniu wyniku reaktywnego dla puli, od razu wykonuje się badania pojedynczych próbek, czas zwolnienia donacji ujemnych wchodzących w jej skład nie ulega wydłużeniu.

Zwiększone zużycie odczynników (12,7%) spowodowane wykonywaniem badań równoległych oraz dodatkowymi badaniami koniecznymi dla identyfikacji próbek reaktywnych nie miało wpływu na koszt zwolnienia donacji. Umowa zawarta z dostawcą odczynników przewiduje cenę tylko za zwolnioną donację bez względu na liczbę wykonanych oznaczeń dla uzyskania ostatecznego wyniku.

W innych RCKiK, w których częściej wykrywa się wirusy HCV, HBV czy HIV ten odsetek może ulec zwiększeniu. Podobnie zmiana przeglądowych testów immunoenzymatycznych może zarówno wpłynąć na zwiększenie zużycia odczynników, jak i ich zmniejszenie.

Badania technikami biologii molekularnej w pulach po 6 donacji mogą być wykonywane bez względu na wyniki serologicznych badań przeglądowych i wyniki AIAT w rutynowych badaniach dawców krwi. Zastosowanie tego typu algorytmu nie zmienia sposobu weryfikacji próbek powtarzalnie seropozytywnych.

Specjalne podziękowania dla prof. dr hab. n. med. Ewy Brojer za pomoc w przygotowaniu niniejszego artykułu.

Piśmiennictwo

1. Łętowska M. (red.). Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielenia jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych polskiej służby krwi. Warszawa, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, 2006; 8–1–8–23 (z późniejszymi zmianami).
2. Grabarczyk P., Medyńska J., Liszewski G. i wsp. HCV RNA and HIV RNA detection by PROCLEIX HIV1/HCV ASSAY in blood donors with various results of anti-HCV and anti-HIV EIA. *Journal of Transfusion Medicine* 2009; 1 (1): 26–33.
3. Dufour D.R., Talastas M., Fernandez MD., Harris B., Strader DB., Seeff L. Low-positive anti-hepatitis C virus enzyme immunoassay results important predictor of low likelihood of hepatitis C infection. *Clinical Chemistry* 2003; 49: 479–486.
4. Dzieciatkowska A., Rosiek A., Lachert E., Kubis J., Łętowska M. Ocena aktywności AIAT jako testu pomagającego wykluczać

- dawców krwi zakażonych wirusem zapalenia wątroby. *Journal of Transfusion Medicine* 2008; 1 (1): 28–35.
5. Seyfried H., Brojer E., Grabarczyk P. i wsp. Analiza częstości wykrywania markerów zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) u polskich dawców krwi w latach 1994–2003. *Przegląd Epidemiologiczny* 2005; 59: 807–814.
 6. Grabarczyk P., Seyfried H., Brojer E., Rosińska M., Mikulska M., Łętowska M., Regionalne Centra Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa. Wykrywanie HBsAg u polskich dawców krwi w latach 1995–2004. *Journal of Transfusion Medicine* 2009; 2 (1): 20–25.
 7. Mikulska M., Sułkowska E., Grabarczyk P. i wsp. Częstość zakażeń wirusem HIV w populacji krwiodawców w Polsce w latach 1988–2007. *Journal of Transfusion Medicine* 2008; 1 (1): 20–27.
 8. Instrukcja wykonania testu cobas® TaqScreen MPX do użytku z systemem cobas s 201.
 9. Phikulsod S., Oota S., Tirawatnapong T. i wsp. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. *Transfusion* 2009, 49: 1126–1135.
 10. Schmidt M., Pichl L., Jork C. i wsp. Blood donor screening with cobas s 201/cobas TaqScreen MPX under routine conditions at German Red Cross institutes. *Vox Sanguinis* 2009; 98 (1): 37–46.