

Sprawozdanie z XIX Regionalnego Zjazdu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi (ISBT) oraz z obrad Grupy Roboczej ds. Zakażeń Przenoszonych przez Krew ISBT, Kair, Egipt, 21–25 marca 2009 roku

Ewa Brojer, Magdalena Łętowska

Czynniki zakaźne przenoszone przez krew

Tematy związane z zakażeniami przenoszonymi przez krew stanowiły bardzo znaczącą część doniesień XIX Regionalnego Zjazdu Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi (ISBT, *International Society of Blood Transfusion*) w Kairze. Wiązało się to prawdopodobnie z wysokim zainteresowaniem tym tematem ze względu na dużą częstością wykrywania zakażeń w regionie Morza Śródziemnego. Poświęcono tym problemom cztery sesje:

1. *Updates on Hepatitis B*;
2. *Updates on Hepatitis C*;
3. *Parasites and transfusion*;
4. *Emerging pathogens*.

Dodatkowo tematy wirusologiczne poruszono w czasie sesji *Haemovigilance*.

Na każdej z sesji prezentowano referaty programowe (wykłady) oraz doniesienia wybrane przez organizatorów do prezentacji ustnych. W programie zjazdu znalazły się też plakaty dotyczące czynników zakaźnych. Prezentowano wyniki najnowszych badań naukowych istotne z punktu widzenia bezpieczeństwa przetoczeń, analizy nowo wprowadzanych testów i analizy epidemiologiczne. Autorzy referatów plenarnych omawiali badania nad czynnikami zakaźnymi, inicjowane i prowadzone przez transfuzjologów. Przytaczano w nich wiele przykładów wkładu badań krwiodawców w poznawanie biologii czynników zakaźnych.

Sesja *Updates on Hepatitis B* — Aktualne zagadnienia dotyczące zapalenia wątroby typu B

Nowe zagadnienia dotyczące wirusa zapalenia wątroby typu B zastały przedstawione na specjal-

nej sesji. Referat wstępny wygłosił Jean-Pierre Allain [1] — poświęcił go przede wszystkim badaniom nad polimorfizmem wirusa HBV i ich znaczeniu dla bezpieczeństwa przetoczeń. Allain omówił dystrybucję geograficzną genotypów HBV w regionie Morza Śródziemnego, gdzie występuje przede wszystkim genotyp D, w przeciwieństwie do krajów Europy Zachodniej, gdzie dominuje genotyp A. W regionach subsaharyjskich występuje dodatkowo bardzo agresywny genotyp E. W dalszej części wykładu Allain omówił wyniki badań nad polimorfizmem HBV u dawców z ukrytym zakażeniem (OBI, *occult B infection*). Stwierdził, że w porównaniu z dawcami z HBsAg, u dawców z OBI występuje częściej genotyp D. Cechuje się on wysoką częstością mutacji w regionie MHR (*major hydrophobic region*). Trzecim poruszonym zagadnieniem była analiza zależności wykrywania DNA HBV u dawców z HBsAg od genotypu. Częstość niewykrywania DNA HBV u dawców z HBsAg wynosi 0–15%. Jest ona związana z czułością stosowanych testów, ale też z genotypami. Genotyp C cechuje się najwyższym stopniem wykrywalności, a genotyp D i E najniższym.

Ostatnim zagadnieniem poruszonym w referacie była zakaźność HBV od dawców HBsAg–/HBV DNA+. Autor podkreślił dobrze znane fakty, że krew od dawców znajdujących się w okienku serologicznym jest bardzo zakaźna, natomiast zakaźność krwi od dawców z ukrytym zakażeniem jest ciągle jeszcze nieznana. Niewątpliwie obecność anty-HBs u dawcy lub u biorcy zmniejsza ryzyko przeniesienia zakażenia, nawet przy obecności DNA wirusa w przetoczonej donacji. Konieczne jest prowadzenie obserwacji u biorców, którzy otrzymali krew od dawców z ukrytym zakażeniem.

Ekiaby i wsp. przedstawili wyniki badań wykrywania DNA HBV za pomocą najnowszej generacji testu opartego na metodzie TMA — ULTRIO PLUS [2]. Stwierdzili, że mimo iż jego czułość jest wyższa niż czułość poprzednio używanego testu, nie umożliwia on wykrycia DNA wirusa u wszystkich dawców z antygenem HBs. Nie jest więc możliwe, by badania molekularne zastąpiły badania serologiczne.

W doniesieniu z Polski Grabarczyk i wsp. omówili polimorfizm DNA wirusa HBV u dawców z HBsAg [3]. Stwierdzono, że 80% z nich jest zakażonych genotypem A, a 20% genotypem D. W izolatach wirusa stwierdzono istnienie wielu mutacji: u 16,3% wykryto mutacje ucieczki w regionach MHR białka S. Były one częściej wykrywane w genotypie D niż A. U ponad 80% dawców z HBsAg wykryto mutacje w regionie BCP/PC.

Meldal i wsp. z Tunezji przedstawili analizę nowego podtypu HBV — D6 [4].

Sesja *Updates on Hepatitis C* — Aktualne zagadnienia dotyczące zapalenia wątroby typu C

Busch omówił zagadnienia dotyczące wirusa HCV [5, 6]. Wykład był szczególnie ważny dla słuchaczy z Egiptu, ponieważ w tym kraju częstość zakażeń HCV jest najwyższa na świecie. Referat stanowił podsumowanie wiedzy o HCV, która nagromadziła się w ciągu 30 lat od odkrycia wirusa i od wprowadzenia badań u krwiodawców.

Na wstępie Busch omówił historię odkrycia wirusa i rolę, jaką w tym odkryciu i udowodnieniu znaczenia klinicznego odegrały prowadzone w Stanach Zjednoczonych rejestry chorych na potransfuzyjne zapalenie wątroby nie-A, nie-B oraz banki próbek tych chorych i dawców, od których chorzy otrzymali krew. Jak wiadomo, współpraca trzech ośrodków badawczych: dr. Altera z *National Institute of Health* (NIH), dr. Bradleya z *Center for Disease Control* (CDC) oraz dr. M. Houghtona z laboratoriów firmy Chiron doprowadziła w 1989 roku do wykrycia nieznanego dotąd wirusa. Wyizolowano go z krwi szympansa zakażonego osoczem chorego z potransfuzyjnym zapaleniem wątroby nie-A nie-B, dziś zwanego HCV. Tylko dzięki dostępności wspomnianych banków próbek w krótkim czasie udało się udowodnić patogenność oraz zakaźność nowo odkrytego wirusa, a także przetestować odczynniki do badań przeglądowych, które zostały wyprodukowane, by identyfikować zakażonych dawców krwi.

Od momentu wprowadzenia tych testów do krwiodawstwa w Stanach Zjednoczonych identyfikuje się co roku około 10 000 bezobjawowych nosicieli wirusa z przeciwciałami anty-HCV.

Od ponad 10 lat stosuje się też testy molekularne identyfikujące zakażenie u dawcy przed pojawieniem się przeciwciał. Obie te grupy dawców ze zidentyfikowanym zakażeniem były przedmiotem wielu analiz i obserwacji.

Niektóre z nich Busch omówił w drugiej części wykładu. Obserwacje te dotyczyły naturalnego przebiegu zakażenia HCV. Wynika z nich, że u 27% zakażonych dawców dochodzi do szybkiej eliminacji zakażenia HCV, a u dalszych 8% taka eliminacja zachodzi w ciągu 2–10 lat od momentu zakażenia.

Busch poświęcił szczególną uwagę omówieniu badań poziomu wirerii w różnych fazach zakażenia HCV. Badania te wykonano na zgromadzonych w latach 1974–1980 próbkach dawców i chorych z potransfuzyjnym zapaleniem wątroby. W próbkach pobranych od osób w bardzo wczesnym okresie zakażenia (w pierwszych kilku tygodniach) obserwowano wahanie się wirerii na bardzo niskim poziomie. Podobnie bardzo niski poziom wirerii obserwowano u niektórych osób z przeciwciałami anty-HCV. Niski poziom wirerii, poniżej czułości stosowanych testów, sprawia, że osoba może być uznana za całkowicie wyleczoną, choć jest w dalszym ciągu zakażona HCV. Dopiero wykonanie badania RNA HCV w kilku powtórzeniach pozwala na ustalenie stanu zakażenia.

Osobnym omawianym zagadnieniem była zakaźność składników krwi od osób z miniwirerią HCV. W przedstawionych analizach w 1 przypadku na 12 analizowanych stwierdzono przeniesienie zakażenia HCV przez dawcę z przeciwciałami lecz bez RNA HCV. Jest to istotna obserwacja wskazująca, że nawet w dobie stosowania badań molekularnych u wszystkich dawców nie można ograniczyć stosowania badań serologicznych.

Następnym tematem wykładu Buscha były wyniki odległych analiz krwiodawców, u których wykryto i potwierdzono zakażenie HCV w przeszłości. Analizowano śmiertelność oraz przyczyny śmierci u 10 000 byłych krwiodawców, z potwierdzonym zakażeniem HCV oraz u 10 000 dobranych pod względem wieku i płci dawców niezakażonych. Wykazano, że śmiertelność w grupie zakażonych jest około 3-krotnie większa niż wśród dawców niezakażonych. Statystycznie istotnie częściej powodem śmierci była choroba wątroby oraz samobójstwa. Jest to zgodne z obserwacjami wskazującymi, że zakażenie HCV może prowadzić do zaburzeń osobowości.

Busch przytoczył też wyniki Susan Stramer dotyczące tak zwanych *immunosilent infections* wirusem HCV. Wydaje się, że w sporadycznych przypadkach może dojść do zakażeń HCV, które nie

generują powstawania przeciwciał u zakażonej osoby. Są przesłanki, że zakażenie takiego typu powodowane jest przez warianty HCV z delecjami. Zagadnienie to wymaga jednak dalszych badań, a przede wszystkim gromadzenia materiału od osób, które mają udokumentowane zakażenia HCV, a nie produkują przeciwciał.

Osobnym zagadnieniem jest zagadnienie tak zwanej serorewersji — zanikania produkcji swoistych przeciwciał anti-HCV. Ciągłe jest ono, według Buscha, zbyt mało poznane, a zasługuje na badania.

Sesja *Parasites and transfusion* — Pasożyty i transfuzje

Rios omówił zagadnienia dotyczące zakażeń przenoszonych przez owady w świetle obserwowanych na świecie zmian klimatycznych [7]. Pion krwiodawstwa musi być świadomy zmian w epidemiologii chorób zakaźnych, które mogą wynikać z globalnego ocieplenia. Zmiany klimatyczne mogą doprowadzić do pojawienia się tych zagrożeń w krajach, które do tej pory nie były nimi objęte. Mogą też wpłynąć na niemożliwe do przewidzenia zmiany zachowań i cech biologicznych owadów będących rezerwuarem czynników zakaźnych (zwiększanie reprodukcyjności, przyspieszanie dojrzewania, skrócenie cyklu życiowego pasożyta itp.). Wydaje się, że obserwowana w ostatnich latach, szybko rozprzestrzeniająca się w Stanach Zjednoczonych epidemia wirusa Zachodniego Nilu (WNV, *West Nile virus*), a także wirusa Denque może być wiązana ze zmianami klimatycznymi.

W doniesieniach wybranych przez komitet naukowy do prezentacji ustnych Leiby i wsp. zaprezentowali zagadnienia dotyczące malarii, a Assal i wsp. omówili zastosowanie metod biologii molekularnej do wykrywania i oceny ilościowej *Trypanosoma cruzi* [8, 9].

Sesja *Emerging pathogens* — Pojawiające się czynniki zakaźne

Referat Burgera z Instytutu Roberta Kocha w Berlinie dotyczył pojawiających się czynników zakaźnych — tematu omawianego na każdym kolejnym zjeździe transfuzjologów [10, 11]. Referat poruszał więc dobrze znane wątki. W ciągu ostatnich trzydziestu lat corocznie pojawia się nieznany dotąd czynnik zakaźny lub zauważa się związek jakichś patologii ze znanym, lecz nieuznanym za istotny klinicznie czynnikiem zakaźnym. Przykładami takich czynników są wirusy HIV czy HCV, bakterie, takie jak *Borrelia*, *Helicobacter pylori*, czy takie czynniki zakaźne, jak priony.

Szczególną uwagę Burger poświęcił zagrożeniom, które były obserwowane w ostatnim czasie:

1. ryzyku wybuchu pandemii wirusa grypy i związanym z tym koniecznym posunięciem w służbie krwiodawstwa;
2. danym o zwiększonej liczbie zakażeń wirusem *Chikungunya*.

Ryzyko pandemii grypy wirusem grypy musi być brane pod uwagę przez służbę krwiodawstwa, nie ze względu na zwiększone zapotrzebowanie na krew, bo zachorowania na grypę go nie spowodują, lecz przede wszystkim ze względu na zmniejszenie liczby dawców i zwiększenie absencji personelu, na co centra krwiodawstwa muszą być przygotowane organizacyjnie.

Istotne znaczenie dla podjęcia decyzji co do sposobu kwalifikacji dawców do przetoczeń będzie miała charakterystyka przebiegu zakażenia szczepem wirusa, który spowoduje pandemię, w tym odpowiedź na pytania — jaki jest okres bezobjawowego zakażenia, czy w tym okresie krew dawcy jest zakaźna. Z punktu widzenia bezpieczeństwa biorców w momencie pojawienia się ryzyka pandemii będzie konieczne przeprowadzenie badań, które odpowiedzą na te pytania.

Wirus *Chikungunya*, który jest przenoszony głównie przez komary, może być też przenoszony przez przetoczenie krwi. Zwiększoną liczbą zakażeń tym wirusem obserwowano na wyspach oceanu Indyjskiego (m.in. na wyspach Madagaskar i Mauritius) oraz w Indiach. W zamorskiej prowincji Francji (Le Reunion) zastało zakażonych około 30% ludności. Krew dla chorych w okresie tej epidemii musiała być dostarczana z Francji. Wirus pojawił się też ostatnio w jednej z prowincji Włoch.

Sambri i wsp. zaprezentowali dane dotyczące epidemii zakażeń WNV, która miała miejsce we Włoszech [12]. Jak wiadomo, WNV jest chorobotwórczy nie tylko dla ludzi, ale też dla innych kręgowców, w tym ptaków i koni. Epidemie wśród koni obserwowane są w Europie od około 15 lat. Notowane były w ciągu ostatniego roku w Rumunii i na Węgrzech. We wrześniu 2008 roku wiele zachorowań u koni obserwowano w Północnych Włoszech. Stwierdzono tam też trzy przypadki zachorowań u ludzi. Zidentyfikowały je służby epidemiologiczne, a wyniki badań diagnostycznych udokumentowały, że zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych było wywołane przez WNV. Skutkiem obserwowanych zachorowań u koni i u ludzi było podjęcie badań krwiodawców w kierunku WNV. Wykonano je testem opartym na technice amplifikacji przez transkrypcję (TMA, *transcription mediated amplification*). Zbadano 6000 próbek osocza i nie stwierdzo-

no RNA wirusa w żadnej z nich. Badania zakończono ze względu na kończący się sezon aktywności komarów, które są wektorem dla WNV. Przed wprowadzeniem rutynowych badań technikami biologii molekularnej (NAT, *nucleic acid tests*) w kierunku wirusa WNV konieczna jest ocena sytuacji epidemiologicznej za pomocą testów serologicznych, by stwierdzić, jaka jest częstość wykrywania przeciwciał świadczących o przebyciu zakażenia.

Kleinman i wsp. przeanalizowali doniesienia z literatury dotyczące przypadków przeniesienia wirusa HIV przez przetoczenie, które miały miejsce po wprowadzeniu rutynowych badań HIV RNA [13]. Podsumowali przypadki opisane w 10 doniesieniach i stwierdzili, że donacje przetoczone od dawców znajdujących się w okresie okienka serologicznego nie zawsze są zakaźne. Dwie jednostki świeżo mrożonego osocza i wszystkie trzy preparaty koncentratów krwinek płytkowych od dawców z wiremią od około 600–3000 j.m./ml przeniosły zakaźnie, ale 3 z 9 jednostek koncentratów krwinek czerwonych od dawców z wiremią od około 500–5000 j.m./ml nie przeniosło zakażenia. Minimalna dawka zakaźna, obliczona na podstawie wyników analiz dokonanych przez autorów, jest około 100 razy większa od obliczonej poprzednio, na podstawie badań przeprowadzonych na makakach. Prawdopodobnym wytłumaczeniem niższej, niż się spodziewano, zakaźności koncentratów krwinek czerwonych jest degradacja wirusa podczas przechowywania preparatu dłużej niż 7 dni w temp 4°C.

Piron i wsp. omówili zagadnienie badań wirusa HTLV (*human T-lymphotropic virus*) w Katalonii [14]. Kraj ten nie należy do regionów endemicznych zakażeń HTLV; badanie w kierunku wirusa wprowadzono jednak wśród dawców, którzy pochodzili z lub przebywali w regionach endemicznych — w krajach Środkowej i Południowej Ameryki. Po przebadaniu 8207 dawców zakażenie potwierdzono u 5 (0,06%). U 3 kolejnych osób, partnerów seksualnych HTLV dodatnich dawców, też wykryto przeciwciała do HTLV. Autorzy postulują rozważenie wprowadzenia obowiązkowych badań przeglądowych HTLV u dawców z Katalonii.

Schmidt i wsp. przedstawili bardzo ciekawe wyniki badań przenoszenia zakażenia parwowirusem B19 [15]. Dawcy z dwóch centrów krwiodawstwa w Ulm i we Frankfurcie byli badani za pomocą metod NAT w kierunku DNA tego wirusa, przy czym próbki osocza od dawców z Ulm badano z opóźnieniem, 6 tygodni po oddaniu krwi, co powodowało, że wyniki tych badań nie mogły być użyte do kwalifikacji koncentratów krwinek płytkowych i krwinek czerwonych do użytku klinicznego. Sys-

tem badań we Frankfurcie umożliwiał dopuszczenie do użytku klinicznego tylko donacji zawierających mniej niż 10^5 j.m./ml DNA parwowirusa B19. W przedstawionej pracy analizowano wynik badań DNA B19 i przeciwciał do wirusa u chorych, którzy otrzymali składniki krwi od dawców z wiremią powyżej 10^5 j.m./ml (36 donacji) i tych, którym przetoczono składniki krwi niezawierające powyżej 10^5 j.m./ml (40 dawców). Stwierdzono, że u żadnego z chorych, którzy otrzymali składnik krwi zawierający mniej niż 10^5 j.m./ml DNA wirusa nie doszło do przeniesienia zakażenia. Wirus został przeniesiony do biorcy we wszystkich przypadkach, gdy u dawcy wiremnia była wyższa niż 10^5 , a stężenie przeciwciał było niskie.

Sesja *Haemovigilance* — Czuwanie nad bezpieczeństwem krwi

Sesja ta była poświęcona różnym aspektom procedur czuwania nad bezpieczeństwem krwi. Jednym z nich jest czuwanie nad bezpieczeństwem wirusologicznym.

Wyniki dotyczące procedur *look back* odnoszących się do dawców, u których wykryto DNA HBV, a nie wykryto antygenu HBs, przedstawiono w doniesieniu ustnym Kopacz i wsp. [16]. Podsumowano w nim obserwacje z Polski. Prześledzono wyniki procedur śledzenia wstecz u 13 biorców krwi, którym przetoczono krew od dawców z ukrytym zakażeniem HBV i u żadnego chorego nie wykazano potransfuzyjnego zapalenia wątroby typu B. Zwrócono uwagę na konieczność opracowania protokołu badań u chorych poddawanych procedurze śledzenia wstecz z powodu możliwości zakażenia HBV przez przetoczenie. U takich osób bardzo istotne są wyjściowe wyniki badań przed przetoczeniem świadczące o przebyciu zakażenia i/lub o szczepieniu (anty-HBc i anty-HBs). Najczęściej u chorych nie wykonuje się niestety takich badań. Przy analizie potwierdzającej lub wykluczającej przeniesienie zakażenia konieczne jest wykonanie badań anty-HBc. Wynik ujemny świadczy o braku przeniesienia zakażenia, wynik dodatni ma najczęściej bardzo ograniczoną wartość, bo gdy nie ma wyników przed przetoczeniem, nie można ustalić, kiedy chory przebył zakażenie.

Sesje plakatowe

Pozostałe wyniki badań zostały zaprezentowane w formie plakatów. Doniesienia plakatowe, jak na każdym zjeździe, prezentowały aktualne wyniki badań różnych ośrodków. Należy podkreślić, że wyniki swoich badań oraz swoje obserwacje prezentowały nie tylko ośrodki naukowe i kliniki, lecz tak-

że szpitale i centra krwiodawstwa poszczególnych miast czy regionów. Fakt ten obrazują niektóre tytuły doniesień wymienionych w piśmiennictwie. Jak co roku badania z dziedziny czynników zakaźnych przenoszonych przez krew dotyczyły przede wszystkim następujących zagadnień:

1. metod i wyników badań przeglądowych czynników zakaźnych przenoszonych przez krew [17–22];
2. oceny czułości i swoistości różnych testów molekularnych i serologicznych dla wykrywania wirusów HCV, HBV, HIV, CMV, EBV [23–29];
3. badań polimorfizmów wirusów [30–33];
4. analizy metod i wyników potwierdzania zakażenia u krwiodawców z dodatnimi wynikami testów przeglądowych [34–36];
5. doświadczenia w badaniach NAT [37–40];
6. metod inaktywacji i filtracji krwi — ich wpływowi na zmniejszenie liczby leukocytów oraz możliwości przenoszenia prionów [41–42];
7. „ukrytego zakażenia” HBV u krwiodawców [43–45].

Obrady Grupy Roboczej ds. Zakażeń Przenoszonych przez Krew Międzynarodowego Towarzystwa Przetaczania Krwi (TTI Working Party of ISBT)

Podgrupa ds. wirusologii

Sprawozdanie i plany na przyszłość Grupy Roboczej ds. wirusologii przedstawili M. Busch, K. Roth i S. Stramer. Omówili plany podsumowania wyników badań NAT na świecie w 10 rocznicę ich wprowadzenia. Grupa Robocza przygotowała specjalny kwestionariusz, który pozwoli zebrać dane do analizy wyników uzyskiwanych w różnych krajach.

Ważnym zagadnieniem, które jest przedmiotem analiz tej Grupy Roboczej, są przypadki tak zwanych *HIV elite controllers*, czyli osób zakażonych wirusem HIV, które mają przeciwciała anty-HIV, lecz u których, mimo że nie byli leczeni, nie wykrywa się RNA HIV w osoczu. Wydaje się, że liczba takich osób jest niska, lecz obserwowano ich obecność w badaniach w wielu krajach, między innymi w Stanach Zjednoczonych, Francji, Niemczech i w Południowej Afryce. W Australii, mimo przebadania testami serologicznymi i testem wykrywającym RNA HIV blisko 9 milionów krwiodawców, nie stwierdzono żadnego przypadku *elite controllers*. Częstość występowania osób bez wykrywalnego RNA HIV wśród osób z przeciwciałami waha się więc od 0 do 3,3%. Wykazano, że poziom wirerii u osób „kontrolujących” zakażenie HIV jest bardzo niski, niższy niż 50 kopii/ml.

Częstość występowania *elite controllers* jest około dwukrotnie wyższa wśród zakażonych wirusem HIV kobiet niż wśród zakażonych mężczyzn. By wyjaśnić to zjawisko, należy gromadzić dane oraz próbki krwi i osocza od takich osób. Fakt identyfikacji tych, których można nazwać osobami z „ukrytym zakażeniem HIV”, wśród krwiodawców potwierdza, że w żadnym wypadku nie jest możliwa rezygnacja z wykonywania badań anty-HIV u krwiodawców, mimo bardzo czułych metod wykrywających RNA wirusa.

Następną planowaną przez tę Grupę Roboczą pracą będzie utworzenie banku próbek osocza od krwiodawców z wykrytym RNA HIV, a bez wykrytych przeciwciał lub od krwiodawców w bardzo wczesnym okresie serokonwersji. Próbkę te będą poddane badaniom molekularnym, określającym poziom wirerii, genotypy, subtypy i formy rekombinacyjne wirusa HIV. Istotne jest, by były w nim reprezentowane szczepy HIV z różnych regionów świata. Bank taki jest konieczny dla standaryzacji nowych, udoskonalanych testów diagnostycznych, których zadaniem jest wykrywanie z odpowiednią czułością zmieniających się genetycznie szczepów HIV.

Grupa Robocza ds. wirusologii zajmowała się też badaniami testów do wykrywania antygenów rdzeniowego HCV. Wyrażono pogląd, że zasadne jest kontynuowanie badań nad ulepszaniem takich testów — byłyby bardzo przydatne dla krajów, które ze względów ekonomicznych czy organizacyjnych nie są w stanie wprowadzić badań molekularnych. Badania porównawcze wykrywania antygenów rdzeniowego HCV w próbkach zidentyfikowanych w programach NAT w różnych krajach, z wykrytym RNA HCV, a bez przeciwciał anty-HCV przeprowadziła dr S. Laperche.

Omówiono też wyniki badań nad należącem do flawiwirusów wirusem *Dengue* przenoszonym przez komary *Aedes mosquito*. Wyróżnia się cztery serotypy wirusa: DENV 1, 2, 3 i 4. Zakażenia wirusem *Dengue* występują w regionach Ameryki Środkowej i Południowej, w Zachodniej Afryce, Indiach, na Półwyspie Indochińskim i w północno-wschodniej części Australii i Oceanii. Ogółem około 2,5 miliarda ludzi żyje w regionach objętych ryzykiem epidemii wirusa *Dengue*; 53–87% zakażeń przebiega bezobjawowo. Objawy kliniczne występują u około 50–100 milionów ludzi na całym świecie i dotyczą głównie dzieci; 500 000 osób wymaga leczenia szpitalnego, a około 25 000 osób rocznie umiera w wyniku zakażenia tym wirusem. Przebieg choroby jest bardzo różnie nasilony i manifestuje się szerokim spektrum objawów klinicznych, poczynając od gorączki o nieustalonej przyczynie przez gorączkę krwotoczną aż do wstrząsu.

Wirus *Dengue* od kilku lat leży w kręgu zainteresowań transfuzjologów. Potencjalnie zakaźne mogą być osoby, które odwiedzały regiony endemicznego występowania wirusa. Opisano kilka przypadków przeniesienia zakażenia przez przetoczenie. W Singapurze u dawcy objawy kliniczne wystąpiły następnego dnia po oddaniu krwi. U 2 biorców rozwinęły się objawy kliniczne, trzeci nie miał objawów, ale wytworzył przeciwciała klasy IgM (NEJM 2008; 359). Analogiczny przebieg zakażenia opisano w ProMed (2002) — dotyczył krwiodawcy z Hongkongu.

W 2005 roku podjęto badania molekularne wirusa *Dengue* za pomocą metody TMA, testem wyprodukowanym przez firmę GenProbe. Wykonano je w Hondurasie, Brazylii, Australii i Puerto Rico. Materiał genetyczny wirusa wykryto w 0–0,37% przebadanych donacji. Test TMA wykrył wszystkie cztery serotypy wirusa.

W 2007 i 2008 roku wykonano badania RNA wirusa *Dengue* u krwiodawców z Puerto Rico. Spośród 6400 przebadanych donacji, z których próbki zostały przesłane do Stanów Zjednoczonych (pochodziły z Puerto Rico), RNA wirusa wykryto w 12 (0,19%). Swoistość testu do wykrywania RNA wirusa wynosiła 99,99%.

Test ten jest potencjalnie możliwy do zastosowania w przypadku wystąpienia ryzyka epidemii. W południowych regionach Stanów Zjednoczonych — zwłaszcza w południowym Teksasie — taka epidemia wystąpiła siedmiokrotnie od 1980 roku. Na Hawajach epidemia zakażeń wirusem *Dengue* wystąpiła w 2001 roku.

Grupa ds. zakażeń HBV

Podsumowanie działań Grupy ds. zakażeń HBV przedstawił prof. J.P. Allain — zaprezentował wyniki badań nad polimorfizmem wirusa HBV, wykonanych przy współudziale kilku krajów — w tym Polski. Wyniki tych badań zostały przedstawione w trzech pracach oryginalnych i opublikowane. Treść wystąpienia w dużym stopniu pokrywała się z wystąpieniem na sesji *HBV updates* ogłoszonym w czasie obrad.

Allain omówił trudności, na jakie napotyka się w badaniach mających na celu potwierdzenie ukrytego zakażenia HBV. Z powodu bardzo niskiej wiremii mamy tu do czynienia z brakiem powtarzalności wyników testów w kierunku HBV DNA (wynika to z zasady Poissona). Należy wykonywać wiele powtórzeń badania. Dodatkowo wskazane jest wykonywanie badań alternatywnymi testami:

1. testami komercyjnymi innego producenta;
2. testami typu *home made*, szczególnie z zastosowaniem techniki *real-time* PCR (*polymerase chain reaction*);
3. testami *home made* amplifikującymi niewielkie fragmenty genomu HBV z regionów BCP/PC i S. Przydatne są też procedury zwiększające koncentrację wirusa w próbce, przed poddaniem jej amplifikacji — zwiększenie objętości próbki badanej z 0,2 do 0,5 a nawet 1 ml, wstępne wirowanie próbki dla zagęszczenia koncentracji wirusa przez 6 minut z siłą wirowania powyżej 10 000 g, a także zastosowanie technik typu *immuno-capture* do wychwycenia cząstek wirusa.

Istotne znaczenie ma też zastosowanie metod serologicznych. Można wykorzystać test HBsAg o większej czułości niż ten stosowany w badaniach przeglądowych.

Otrzymanie dodatniego potwierdzonego wyniku anty-HBc wskazuje na przebycie zakażenia HBV. Dodatni wynik testu anty-HBe u osób z anty-HBc stanowi potwierdzenie swoistości wyniku anty-HBc. Obecność anty-HBs, bez innych markerów serologicznych świadczy o przebyciu szczepienia w kierunku HBV. Wykrycie anty-HBs i anty-HBc świadczy o wyzdrowieniu z zakażenia HBV. Obecność DNA HBV i anty-HBs u osoby uprzednio szczepionej wskazuje na tak zwane *breakthrough infection* — czyli zakażenie wariantem/mutantem wirusa, który przełamał odporność uzyskana w wyniku szczepienia.

Piśmiennictwo

1. Allain J.P. HBV infection in the Mediterranean basin and Europe. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 17.
2. Ekiaby Magdy E.I., Allain J-P, Lelie N. Hepatitis B virus DNA and surface antigen particle concentration of ultra-sensitive nucleic acid screening tests in HBsAg carriers. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 17.
3. Grabarczyk P., Garniri P., Brojer E. i wsp. Polimorphism of Hepatitis B virus from first time blond donors with HBsAg in Poland. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 18.
4. Meldal B., Mojaar N., Barnes I. i wsp. A new Hepatitis B virus subtype D6 in Tunisian blood donors. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 18.
5. Busch M.P., Kleinman S.H. Hepatitis C infection: recent insights relevant to transfusion safety. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 22.
6. Busch M.P., Kleinman S.H. Hepatitis C infection: recent insights relevant to transfusion safety. *ISBT Science Series; Vox Sang* 2009; 4: 72.
7. Rios M. Climate change and vector-borne viral diseases potentially transmitted by transfusion. *ISBT Science Series; Vox Sang* 2009; 4: 87.

8. Leiby D., Nguyen M., Goff T., Gibble J. Shifting the focus of malaria deferrals: time for a new paradigm. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 38.
9. Assal A., Auger F., Corbi C. i wsp. Trypanosoma cruzi detection and quantification by real-time PCR. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 39.
10. Burger R. Emerging pathogens and possible threats to blood services. *ISBT Science Series; Vox Sang* 2009; 4: 121.
11. Burger R. Emerging pathogens and possible threats to blood services. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 51.
12. Sambri V., Cavrini F., D'Angelo E. i wsp. The outbreak of West Nile virus infection in Northern Italy: an additional new risk for the safety of blood and organ donation. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 52.
13. Kleinman S., Drimmelen A.A.J., Lelie P.N., Busch M.P. Minipool NAT HIV-1 breakthrough transmission cases and probability of interdiction current small pool or individual-donation NAT screening systems. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 53.
14. Piron M., Romero A., Cosamitiana M. i wsp. HTLV-I/II prevalence in at-risk blood donors from Central and South America in a non-endemic area (Catalonia, Spain). *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 54.
15. Schmidt M., Mayr-Wohlfart U., Kai M. i wsp. Infectivity of B19 positive blood products. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 54.
16. Kopacz A., Grabarczyk P., Sulkowska E. i wsp. The results of look back and trace back procedures for HBV DNA positive/HBsAg negative donors identified in Poland. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 15.
17. Belkacemi M. Prevalence of HIV in blood donors in the department of Sidi Bel Abbes in the democratic and popular Algerian Republic. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 104.
18. Durro V., Korriqi A., Qyra M., Basha M. Epidemiology of transfusion-transmitted infections in multi transfused patients in Albania. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 106.
19. Eita N. Prevalence of HCV and HBV infections among blood donors in Dakahlia, Egypt. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 106.
20. Gamlath P.M.G.R. The Incidence and trends of HBsAg, anti HCV, anti HIV I et II, antibodies to *Treponema Palladium* and slide test for malaria parasite in Sri Lankan blood donations. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 107.
21. Jovanovic P., Levicnik Stecinar S. Prevalence of Anti-HTLV/II in Slovenian blood donors and the impact on blood screening. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 109.
22. Kocovska E., Timova T., Momirovska T., Kocovski M. The prevalence of anti-HCV positive in blood donors in Clinic Hospital-Tetovo. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 91.
23. Ghiazza P., Demarin G., Demarchi G. i wsp. Analytical and technical performances evaluation on Procleix Tigris System for NAT screening in Italy. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 90.
24. Glauser A., Hardegger K., Gottschalk J., Frey B.M. Four parameter NAT screening by taqscreen MPX with Cobas S201 in Switzerland: validation, implementation and first experiences. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 107.
25. Queiros L., Teixeira A., Coelho G. Performance evaluation of a new fully automated HTLV-I/HTLV-II assay in Portuguese blood donors. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 111.
26. Queiros L., Teixeira A., Coelho G. i wsp. Specificity of architect anti-HBC II assay in comparison to prism HBCORE Assay in Portuguese blood donors. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 86.
27. Vucetic D., Trkuljic M., Balint B. i wsp. Combined human immunodeficiency virus antigen-antibody assay investigation among blood donors in Serbia. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 113.
28. Ziermann R., Ohhashi Y., Pai A., Halaith H. Comparative clinical evaluation of the cobas taqscreen MPX Test with the Cobas Ampliscreen HIV-1 V1.5, HCV V2.0, and HBV Tests using high risk population and seropositive specimens. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 95.
29. Mihaljevic I. Evaluation of the architect HCV antigen assay for use in organ and tissue donors. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 24.
30. Mirshafiee H., Milani S., Sharifi Z. i wsp. Genotype analysis of HBV and HDV in Teheran, Iran. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 83.
31. Grabarczyk P., Kalińska A., Sulkowska E. i wsp. Polymorphism and extremely high viraemia observed in parvovirus B19 diagnostic samples-potential difficulties that could be faced during B19 screening in blood donors. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 108.
32. Naroozi M., Shafiri Z., Gharehbaghian A. Genotyping and phylogenetic analysis of the polymerase gene of HBV in volunteer blood donors in Iran. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 84.
33. Neves I., Boavida M., Peres C. i wsp. HBV Genotypes in blood donors of Lisbon Regional Blood Centre. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 84.
34. Kolundzija S.K. Results of testing of confirmed positive voluntary blood donors to Hepatitis C markers — two years experience. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 91.
35. Kourenti A., Faukita V., Stamoulis K. i wsp. The contribution of PCR to determine the anti-HCV positive blood donors and RIBA negative or indeterminate. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 91.
36. Di Tullio Budassi L., Di Paolo O. HTLV I/II Western Blot Assay as a complementary test for donor follow up and counselling. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 104.
37. Alexopoulos A., Tseliou P. Four years experience with ID NAT testing in blood donations in Southwestern Greece. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 78.
38. Anwar F., Abdeinaal M., Khalid H. i wsp. Living with NAT: our experience at King Khalid National Guard Hospital, Jeddha, Saudi Arabia. Updates on Hepatitis C (HCV). *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 89.
39. Neves L., Boavida N., Luig F. i wsp. Five years experience of NAT individual donation in Lisbon regional blood centre donors. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 111.
40. Nogrask P., Javonovic P., Levicnik Stecinar S. Experience in NAT screening: comparison of PCR and TMA based systems. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 94.
41. Keil S., Gilmour D., Miklauz M., Goodrich R. Photochemical inactivation of human Hepatitis B virus using the mirasol pathogen reduction technology (PRT) system as measured by PCR. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 82.
42. Yokomizo T., Nirasawa H., Kai T. i wsp. A combination filter for prion and leucocyte reduction, its prion reduction perfor-

- mance in spiking test assessed by bioassay. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 114.
43. Gonzalez Fraile M.L., del Bianco A.I.J., Golvano Guerrero E. i wsp. Occult Hepatitis B infection in blood donors: a real problem. *Vox Sang* 2009; 96: (supl. 1): 19.
 44. Lam T.P. HBV DNA detection on HBsAg non-reactive/anti HBC reactive donation samples. *Vox Sang* 2009; 96 (supl. 1): 83.
 45. Politis C.P., Vrettou H., Fragatou S. i wsp. Prevalence of occult Hepatitis B (OBI) in thalassaemic patients in Greece: a multi-centre retrospective study. *Vox Sang* 2009, 96 (supl. 1): 85.