

Roczne doświadczenie w badaniu metodami biologii molekularnej ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1, wirusa zapalenia wątroby typu C oraz wirusa zapalenia wątroby typu B u krwiodawców w Tajlandii

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

Soisaang Phikulsod, Sineenart Oota, Thaweesak Tirawatnpong, Tasanee Sakuldamrongpanich, Wilai Chalermchan, Suda Louisirirochanakul, Srivilai Tanprasert, Viroje Chongkolwatana, Pimpun Kitpoka, Praphan Phanuphak, Chantapong Wasi, Chaivej Nuchprayoon oraz Grupa Robocza ds. Badań NAT w Tajlandzkim Krwiodawstwie

Narodowe Centrum Krwi, Tajlandzkie Stowarzyszenie Czerwonego Krzyża, Bangkok;
Zakład Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Chulalongkorn, Bangkok;
Sekcja Czynników Zakaźnych Przenoszonych Drogą Krwi, Narodowy Instytut Zdrowia,
Zakład Nauk Medycznych, Ministerstwo Zdrowia Publicznego, Nonthaburi;
Zakład Mikrobiologii i Transfuzjologii Wydziału Lekarskiego, Szpital w Siriraj,
Uniwersytet Mahidol, Bangkok;
Zakład Patologii, Szpital Ramathibodi, Uniwersytet Mahidol, Bangkok;
Centrum Badań nad AIDS Tajlandzkiego Czerwonego Krzyża, HIV-NAT, Bangkok, Tajlandia

Streszczenie

Wstęp: *Krew pobrana w 2007 roku w Narodowym Centrum Krwi Tajlandzkiego Stowarzyszenia Czerwonego Krzyża została zbadana metodami biologii molekularnej (NAT) za pomocą systemów: TIGRIS/Procleix Ultrio firmy Chiron oraz cobas s 201/cobas TaqScreen MPX firmy Roche.*

Materiał i metody: *Oceny czułości, specyficzności oraz dokładności systemów dokonano przez zbadanie 486 676 seronegatywnych próbek krwi. W każdym dniu pobierania krwi próbki były dzielone na dwie części. Próbki oznaczone numerami nieparzystymi były badane pojedynczo (TIGRIS), podczas gdy próbki oznaczone parzystymi numerami badano w pulach 6 na aparacie cobas s 201. W celu potwierdzenia wyników reaktywnych badano w duplikacie próbki pobrane z pojemnika z osoczem i w ten sposób oceniano specyficzność testu. Reaktywne próbki były testowane na alternatywnym systemie NAT, a następnie badaniom poddano kolejne próbki pobrane od tych dawców.*

Adres do korespondencji: Soisaang Phikulsod, Narodowe Centrum Krwi, Tajlandzkie Stowarzyszenie Czerwonego Krzyża, Bangkok, Tajlandia, e-mail: drsoi195@yahoo.com

Wyniki: Czulość analityczna obu systemów osiągnęła 95-procentowy limit wykrywania, zgodnie z informacją załączoną przez producenta. Nie zaobserwowano krzyżowej kontaminacji w żadnym z testowanych systemów. Specyficzność wyniosła odpowiednio 99,93% dla testu Procleix Ultrio i 99,90% dla testu cobas TaqScreen. W wyniku zastosowania technik NAT, ludzki wirus niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) został wykryty statystycznie u 1 na 97 000 przebadanych dawców, wirus zapalenia wątroby typu C — u 1 na 490 000 przebadanych dawców, a wirus zapalenia wątroby typu B (HBV) — u 1 na 2800 przebadanych dawców krwi. Zidentyfikowano również kilku utajonych nosicieli HBV, z których większość została wykryta za pomocą obu testów. Przypadki okienka serologicznego dla HIV-1 i HCV zostały wykryte przez oba testy.

Wnioski: Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że obydwa systemy i testy nadają się do prowadzenia rutynowych badań NAT przez Narodowe Centrum Krwi Tajlandzkiego Stowarzyszenia Czerwonego Krzyża, chociaż test Procleix Ultrio okazał się mniej czuły w przypadku wykrywania HBV, w porównaniu z testem TaqScreen.

Słowa kluczowe: pojedyncza donacja (ID), minipule (MPs), multiplex (MPX), wirus Zachodniego Nilu (WNV)

J. Transf. Med. 2009; 3: 137–149

Summary

Background: Blood donations collected at the National Blood Center, the Thai Red Cross Society, Bangkok, in 2007 were tested by nucleic acid amplification technology (NAT) using the Chiron TIGRIS/Procleix Ultrio test and the Roche cobas s 201/cobas TaqScreen multiplex test.

Material and methods: The sensitivity, specificity, and robustness were determined by testing 486 676 seronegative blood donations. Samples from each day of collection were divided into two sets; the odd-numbered samples were tested individually on the TIGRIS and the even-numbered samples were tested in pools of 6 on the cobas s 201. The status of reactive samples was confirmed by duplicate testing of samples from the plasma bag to calculate the test specificity. Reactive samples were tested on the alternate system and followed up.

Results: The analytical sensitivity of both systems met the 95% limits of detection claimed by the respective package inserts. No cross contamination was seen with either system. Test specificity was 99.93 and 99.90% for the Procleix Ultrio and cobas TaqScreen tests, respectively. The NAT yield rates for human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1), hepatitis C virus (HCV), and hepatitis B virus (HBV) were 1:97 000, 1:490 000, and 1:2800, respectively. Several occult HBV donors, the majority of whom were detected by both tests, were also identified. The HIV-1 and HCV window cases were detected with both tests.

Conclusion: The performances of the systems and tests indicated that both were acceptable for routine NAT by the National Blood Center, the Thai Red Cross Society. However, the Procleix Ultrio test appeared to be less sensitive than the cobas TaqScreen test for HBV.

Key words: individual donation (ID), minipools (MPs), multiplex (MPX), West Nile virus (WNV)

J. Transf. Med. 2009; 3: 137–149

Wstęp

Ryzyko związane z przeniesieniem chorób wirusowych podczas transfuzji krwi stale się zmniejsza dzięki oddawaniu krwi przez honorowych daw-

ców, bardziej szczegółowemu wywiadowi prowadzonemu wśród dawców oraz czułym testom serologicznym. Wśród testów serologicznych wyróżnić można badania na obecność antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B (HbsAg, he-

patitis B surface antigen), przeciwciał skierowanych przeciwko wirusowi zapalenia wątroby typu C (anti-HCV, *HCV antibody*), antygenowi ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV), przeciwciał skierowanych przeciwko wirusowi HIV-1/2, a w niektórych przypadkach także przeciwciał przeciwko antygenowi rdzeniowemu HBV (anti-HBc, *hepatitis B core antigen antibody*). Niemniej jednak nadal istnieje niewielkie ryzyko przeniesienia infekcji przez transfuzję krwi od dawców znajdujących się w okresie okienka serologicznego (w czasie między zakażeniem wirusem a pierwszą wykrywalną odpowiedzią serologiczną) oraz w szczególności w przypadku wirusa HBV, gdy dawca krwi znajduje się w końcowej fazie infekcji bądź jest przewlekłym nosicielem wirusa HBV. Badania z zastosowaniem techniki amplifikacji kwasów nukleinowych (NAT, *nucleic acid technology*) umożliwiają w znaczącym stopniu skrócenie okienka serologicznego i w ten sposób poprawiają bezpieczeństwo dostarczanej krwi [1]. W większości krajów rozwiniętych, poczynając od 1999 roku, wprowadzono do użycia techniki NAT w celu wykrywania u krwiodawców HIV-1 oraz HCV, a w niektórych krajach również do wykrywania HBV [2, 3]. W Stanach Zjednoczonych i Kanadzie w 2003 roku wprowadzono NAT do wykrywania wirusa Zachodniego Nilu (WNV, *West Nile virus*). Badanie to wprowadzono po epidemii WNV w 2002 roku oraz w związku z przypadkami przeniesienia wirusa biocom organów [4–6]. W Europie Zachodniej HCV wykrywany jest w około 1 na 10^6 próbek oddanej krwi, podczas gdy HIV-1 w 0,3 na 10^6 badanych próbek [2]. W Stanach Zjednoczonych HCV wykrywany jest nieco częściej niż w Europie, bo u 1 na 230 000 dawców [1], natomiast WNV wykrywa się w 1 na 5000 badanych próbek krwi [6]. W tych krajach częstość występowania zakażeń tymi wirusami jest bardzo niska, a techniki NAT wykrywają przede wszystkim zakażenia w okresie okienka serologicznego. W Tajlandii oczekuje się wyższego wskaźnika wykrywania infekcji przy użyciu NAT z powodu częstszego niż w Europie Zachodniej i Ameryce Północnej występowania tych markerów wirusowych. Częstość występowania antygenów lub przeciwciał we krwi dawców w Tajlandii kształtuje się na poziomie 0,3–0,6% dla HIV-1, 3–6% dla HBV oraz 1–4,6% dla HCV [7–9]. Poza wysoką częstością HCV i HIV-1, częstość występowania zakażeń wirusem HBV jest znacznie wyższa w Azji Południowo-Wschodniej, a wyniki ostatnich doświadczeń z zastosowaniem NAT w tym regionie wykazały, że głównym problemem jest zakażenie HBV [10–15].

W przeszłości w Tajlandii największy problem stanowiły zakażenia HIV-1. Od czasu, gdy w 1984 roku wykryto tam pierwszy przypadek AIDS, Krajowy Program Kontroli AIDS (NACP, *the National AIDS Control Program*) doprowadził do ograniczenia rozprzestrzeniania się AIDS w znacznym stopniu, tak że w latach 90. XX wieku rozprzestrzenienie wirusa HIV-1 zmniejszyło się w szybkim tempie [16]. Seropozytywność związana z HIV zmalała w ostatnim czasie z 2,16% do 0,3–0,6% [16]. Ze względu na dużą częstość występowania serologicznych markerów wirusowych w populacji, Tajlandzki Czerwony Krzyż poddał ocenie stosowane rutynowo w krwiodawstwie testy oparte na badaniu kwasów nukleinowych przez przetestowanie dwóch komercyjnych, zautomatyzowanych systemów NAT. W prezentowanych badaniach wyniki testów NAT prowadzonych poprzez badanie indywidualnych próbek i próbek połączonych w minipule (MP) zostały porównane z wynikami stosowanych badań serologicznych.

Materiał i metody

Prezentowane w tej pracy badania przeprowadzono w laboratorium Narodowego Centrum Krwi, Tajlandzkiego Towarzystwa Czerwonego Krzyża w Bangkoku. Ocenie poddano dwa zautomatyzowane, aktualnie stosowane w badaniach krwi systemy NAT: system Chiron Procleix Ultrio (Gen-Probe, Inc., San Diego, USA) przy użyciu aparatu TIGRIS (Chiron, Emeryville, USA) oraz system Roche cobas TaqScreen multiplex (MPX) (Roche Molecular Systems, Branchburg, USA) przy użyciu aparatu cobas s 201 (Roche Instrument Center, Rotkreuz, Szwajcaria). Prezentowana praca podsumowuje wyniki badań przeprowadzonych między 23 stycznia 2007 roku i 22 stycznia 2008 roku w Bangkoku przez Tajlandzki Czerwony Krzyż.

Systemy NAT

Chiron Procleix Ultrio jest badaniem jakościowym, pozwalającym na jednoczesne wykrycie RNA wirusów HIV-1 i HCV oraz DNA wirusa HBV przez wychwytywanie kwasów nukleinowych na perełkach magnetycznych, a następnie amplifikację materiału genetycznego w procesie transkrypcji i wykrywanie z zastosowaniem hybrydyzacji w tak zwanym teście HPA *hybridization protection asna*. Badanie zostało przeprowadzone na aparacie TIGRIS, który jest automatycznym urządzeniem dla testów Procleix, a wyniki przeanalizowano i opracowano przy użyciu oprogramowania TIGRIS. Próbkę reak-

tywne w teście Ultrio były następnie badane testem różnicującym na obecność kwasów nukleinowych pojedynczych wirusów HIV-1, HCV i HBV. W testach różnicujących Procleix stosowane są te same zasady co w teście Procleix Ultrio, z wyjątkiem specyficznych sond dla HIV-1, HCV lub HBV.

Roche cobas TaqScreen MPX jest testem jakościowym opartym na łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (*real time PCR* [*polymerase chain reaction*]) pozwalającym na jednoczesne wykrycie RNA wirusa HIV-1 (grupy M i O), RNA wirusa HIV-2 oraz RNA wirusa HCV, a także DNA wirusa HBV. Badanie zostało przeprowadzone na aparacie Roche cobas s 201 (s 201), który jest automatycznym zestawem składającym się z następujących modułów: stacja pipetująca Hamilton Microlab STAR (Hamilton, Reno, NV) służąca do automatycznego pobierania próbki krwi, aparat COBAS AmpliPrep do ekstrakcji kwasów nukleinowych oraz COBAS TagMan do amplifikacji PCR i detekcji w czasie rzeczywistym. System jest kontrolowany przez program komputerowy zarządzający pulowaniem próbek oraz przez oprogramowanie zarządzające danymi, które dokonuje ostatecznej interpretacji wyników. Wszystkie próbki reaktywne w teście MPX poddane były weryfikacji za pomocą testów Roche COBAS AmpliScreen dla wirusów HIV-1, HCV i HBV (Roche Molecular Systems).

W badaniach użyto dwóch aparatów TIGRIS oraz dwóch systemów s 201, z których każdy składał się z jednej stacji pulującej Hamilton Star, dwóch aparatów COBAS AmpliPrep, a także dwóch aparatów COBAS TaqMan (w konfiguracji 1:2:2). W ten sposób zapewniono system rezerwowy w przypadku awarii systemu podstawowego.

Testy serologiczne

W Tajlandzkim Czerwonym Krzyżu przeprowadzane są rutynowe badania serologiczne przy użyciu następujących testów: PRISM anti-HCV, HBsAg, HIV O Plus: i HIV Ag/Ab Combo (Abbott, Abbott Park, USA) oraz oznaczana jest aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) Roche/Hitachi cobas C System (Roche Diagnostics, Mannheim, Niemny).

Do badań potwierdzających wykorzystano testy: Western Blot HIV Blot 2.2 (MP Diagnostics, Singapur), test neutralizacji HBsAg PRISM (Abbott) oraz badanie ilościowe COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV (Roche Molecular Systems).

Powtórne analizy wskazanych próbek i badania kontrolne zostały wykonane przy zastosowaniu następujących testów: badanie HIV Ab/Ab za pomocą Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott),

AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) oraz Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab Combo (bioMerieux BV, Boxtel, Holandia). Badanie antygenu HIV wykonywano przy użyciu testu Murex HIV Ag monoclonal antibody (MoAb) (Murex Biotech, Dartford, Anglia) oraz testu Vironostika HIV-1 Ag (bioMerieux BV).

W przypadku HBV dodatkowe badania dodatknych w NAT próbek krwi i kolejnych próbek pobranych od tych dawców wykonano przy użyciu testu opartego na wykrywaniu przeciwciał IgM oraz IgG skierowanych przeciwko antygenowi HBc (Architect anti-HBc immunoglobulin M oraz anti-HBc immunoglobulin G), a także przeciwciał przeciwko antygenowi HBe wirusa HBV (anty-HBe) oraz przeciwciał przeciwko antygenowi powierzchniowemu HBV (anty-HBs) (Abbott Diagnostics, Sligo, Irlandia).

Genotypy wirusów HIV-1 i HCV zostały oznaczone przez bezpośrednie sekwencjonowanie własną metodą, podczas gdy genotypy HBV — przy użyciu testu INNO-LiPA HBV genotype LineProbe (Innogenetics, NV, Ghent, Belgia).

Czułość analityczna

Czułość analityczną obu systemów sprawdzano przez 24-krotne badanie rozcieńczenia Międzynarodowych Standardów WHO dla HCV (NIBSC 96/798), HBV (NIBSC 97/746) oraz HIV-1 (NIBSC 97/760). Standardy zostały rozcieńczone do poziomu 95-procentowej wykrywalności dla każdego testu. Dla systemu Roche MPX użyto standardów o stężeniu odpowiednio 3, 10 i 50 IU/ml dla wirusów HBV, HCV oraz HIV-1. W badaniach z użyciem systemu Ultrio zastosowano standardy o stężeniach odpowiednio 10, 3, i 30 IU/ml dla HBV, HCV i HIV-1.

Zanieczyszczenia krzyżowe

Możliwość zanieczyszczeń krzyżowych została zbadana dla obydwu systemów przez dodanie 5 próbek zawierających wysokie stężenie HBV ($> 10^8$ IU/ml), HCV (10^5 IU/ml, NIBSC 96/798) oraz HIV-1 (280 000 kopii/ml, oznaczone testem COBAS TaqMan HIV-1 do stosowania z systemem High Pure), a następnie przez losowe rozmieszczenie tych próbek w poszczególnych partiach rutynowo badanej krwi i przeprowadzanie testów w czasie jednego dnia.

Wykrywanie genotypów wirusów

Genotypy trzech wirusów, wyizolowanych w Tajlandii, zostały zbadane indywidualnie na obu systemach. W prezentowanej pracy przebadano 41 izolatów wirusa HIV-1: 12 podtypu B i 29 podtypu

A/E (CRF01_AE); 20 izolatów HBV: 8 genotypu B i 12 genotypu C, a także 20 izolatów HCV: 4 genotypu 1a, 14 genotypu 3a i 2 genotypu 3b.

Odsetek błędów systemowych

Całkowity odsetek błędów był monitorowany dla obydwu systemów. Każde niepowodzenie, które uniemożliwiało otrzymanie wyników badań krwi, uznano za awarię systemu. Monitorowane były również przypadki ludzkich błędów oraz nieprawidłowej kontroli (zarówno kontroli w czasie eksperymentów, jak również kontroli wewnętrznej, a w przypadku systemu TIGRIS także kalibracji).

Próbki krwi

Próbki krwi użyte w prezentowanych badaniach zostały pobrane w Narodowym Centrum Krwi Tajlandzkiego Towarzystwa Czerwonego Krzyża oraz w czasie ekip wyjazdowych na terenach wokół Bangkoku. Wszyscy dawcy, których krew zastała wykorzystana do badań, wyrazili na to zgodę. Próbki pobrane każdego dnia dzielono na dwie części i oznaczono parzystymi oraz nieparzystymi numerami. Następnie próbki krwi oznaczone numerami nieparzystymi były badane na aparacie TIGRIS, a oznaczone numerami parzystymi testowano na s 201. Wszystkie próbki krwi zostały zbadane testami serologicznymi (Abbott PRISM HIV Ag/Ab Combo, Abbott PRISM HBsAg i Abbott PRISM HCV) i tylko seronegatywne próbki zostały zbadane NAT.

Próbki krwi pobrane od dawców były badane pojedynczo na aparacie TIGRIS (ID-NAT) wraz z odpowiednim zestawem kontroli. Próbki reaktywne zostały następnie zbadane w dwóch powtórzeniach z wykorzystaniem osocza krwi dawców i jednocześnie przebadane za pomocą testów różnicujących. Jeśli próbki w testach z osocza krwi oraz w teście różnicującym dawały wynik reaktywny, ostatecznie sklasyfikowano je jako dodatnie. Natomiast próbki, które w powtórnym badaniu okazały się niereaktywne, zostały sklasyfikowane jako ujemne, bez względu na wyniki testów różnicujących.

Próbki pobrane od dawców do badań na s 201 (MP-NAT) pulowano po sześć w minipule. Jeśli dana minipula dawała wyniki reaktywne, każdą próbkę z puli badano indywidualnie przy użyciu testu MPX na s 201. Wyniki dodatnie potwierdzano przez ponowne, dwukrotne przebadanie próbki z osoczem dawcy. W celu określenia rodzaju wirusa, próbki, które ponownie dały reaktywny wynik, były badane przy użyciu COBAS AmpliScreen. Jeśli w powtórnym badaniu próbki te dały wynik niereaktywny, były sklasyfikowane jako fałszywie dodatnie (*false-reactive*).

Wszystkie próbki, które dały reaktywne wyniki podczas badań ID-NAT na aparacie TIGRIS, rozcieńczano w proporcji 1:6 w ujemnym osoczu i ponownie badano przy użyciu s 201. Natomiast każdą próbkę reaktywną w systemie s 201 zbadano pojedynczo na aparacie TIGRIS. W celu dalszej oceny wszystkie próbki dające wynik w obu systemach były wysłane do Laboratorium Zapewniania Jakości (*Quality Assurance Laboratory*) w Zakładzie Nauk Medycznych Narodowego Instytutu Zdrowia Ministerstwa Zdrowia Publicznego w Nonthaburi. Algorytmy badań w obu systemach przedstawiono na rycinach 1 i 2.

Kontynuacja badań dawców

Wszyscy dawcy, u których potwierdzono dodatni wynik w badaniach krwi, byli obserwowani aż do serokonwersji lub do momentu, w którym ich status serologiczny został jednoznacznie określony. Badania kontynuowano z użyciem ID-NAT na aparacie TIGRIS oraz na s 201, a także z wykorzystaniem wszystkich rutynowych badań serologicznych oraz badań potwierdzających obecność antygenów powierzchniowych HBs (test neutralizacji HBsAg). Stosowano również testy na obecność przeciwciał anti-HCV, ilościowy PCR dla HCV, jak również anti-HIV-1/2 (Western Blot oraz antygen p24). Ponadto próbki HBV-reaktywne, z wstępnych i dalszych testów, były badane pod kątem obecności przeciwciał anti-HBc (zarówno całkowitych, jak IgM) oraz przeciwciał anti-HBs.

Czułość i swoistość kliniczna

Obliczono odsetek próbek krwi reaktywnych i powtórnie reaktywnych; 5000 próbek krwi przebadano ponownie za pomocą alternatywnego systemu. Badanie było prowadzone w trakcie rutynowych testów, a próbki badano w minipulach po 6 w systemie 201 s lub na aparacie TIGRIS.

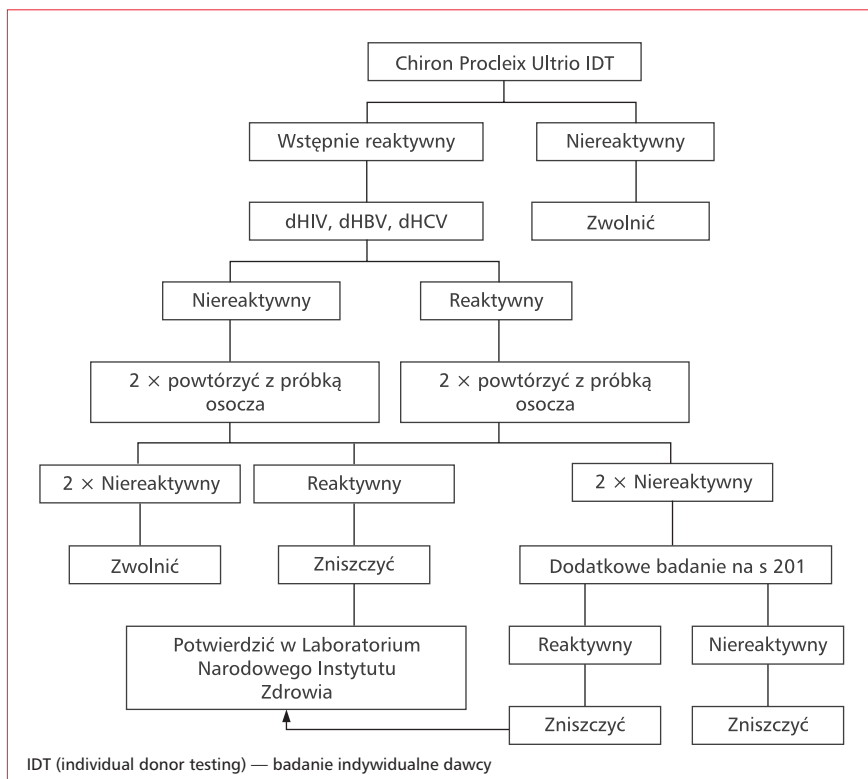
Czas realizacji

W trakcie badań prowadzono statystykę miesięczną całkowitego czasu badania próbek, począwszy od próbek na aparacie cobas s 201 lub umieszczenia próbek w aparacie TIGRIS. Obliczono średni czas badania do zwolnienia przez ponad 10 miesięcy (od marca do grudnia 2007).

Wyniki

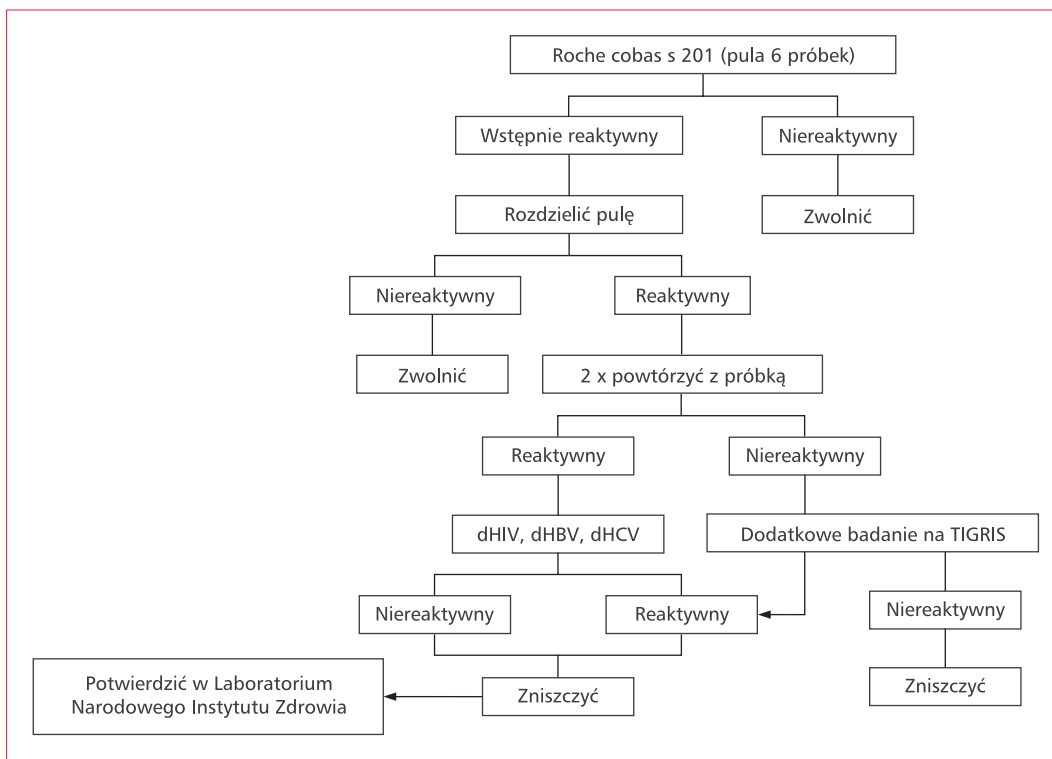
Czułość analityczna

W tabeli 1 podsumowano wyniki badań z międzynarodowymi standardami WHO. Został tam zaprezentowany 95-procentowy limit wykrywalności



Rycina 1. Algorytm postępowania podczas badania w systemie Chiron TIGRIS

Figure 1. Testing algorithm for the Chiron TIGRIS system



Rycina 2. Algorytm postępowania w przypadku badania w systemie Roche cobas s 201

Figure 2. Testing algorithm for the Roche cobas s 201 system

Tabela 1. Ocena czułości analitycznej dwóch testów**Table 1.** Evaluation of analytical sensitivity of the two tests

Standard	Procleix Ultrio			Cobas TaqScreen MPX		
	95% LOD (IU/ml)	Badana próbka (IU/ml)	Liczba reaktywnych/ liczba badanych (%)	95% LOD (IU/ml)	Badana próbka (IU/ml)	Liczba reaktywnych/ liczba badanych (%)
HIV-1 NIBSC 97/760	28,8	30	23/24 (> 95)	49	50	24/24 (> 95)
HCV NIBSC 96/798	3,0	3	23/24 (> 95)	10,7	10	24/24 (> 95)
HBV NIBSC 97/746	10,4	10	24/24 (> 95)	3,7	3	24/24 (> 95)

LOD (*limit of detection*) — limit wykrywania**Tabela 2.** Wykrywanie genotypu w panelach referencyjnych**Table 2.** Genotype detection in reference panels

Wirus (liczba badanych)	Genotyp podtyp (liczba)	Genotyp/podtyp (liczba)	
		Liczba wykrytych przez Procleix Ultrio	Liczba wykrytych przez Cobas TaqScreen MPX
HIV-1(41)	B (12), A/E (29)	41	41
HBV (20)	B (8), C(12)	19*	20
HCV (20)	1a (4), 3a (14), 3b (2)	19†	19†

*„cel nie został wykryty” w jednej próbce, †w tej samej próbce nie wykryto za pomocą obu testów i określano jako „cel nie został wykryty”

dla trzech badanych wirusów, zgodnie z informacją dołączoną do każdego opakowania, dotyczącą także stężenia cząstek wirusowych w czasie badań na obu systemach. Przedstawiono również liczbę próbek reaktywnych w stosunku do ogólnej liczby wszystkich przebadanych. Oba systemy wykazały ponad 95-procentową skuteczność wykrywania dla trzech wirusów.

Zanieczyszczenia krzyżowe

Nie zaobserwowano zanieczyszczeń krzyżowych w żadnym z systemów.

Wykrywanie genotypów

Wyniki badań przeprowadzone w obu systemach podsumowano w tabeli 2. Wszystkie izolaty HIV-1 zostały wykryte przez oba testy. Test Chiron Ultrio nie wykrył jednego izolatu HBV (genotyp C), jednakże miano wirusa w próbce zostało określone jako „cel nie został wykryty”. Oba testy nie wykryły tego samego izolatu HCV (genotyp 3a), a miano wirusa w próbce krwi było również określone jako „cel nie został wykryty”.

Wskaźnik awarii systemu

Całkowita liczba błędów obu systemów była zbliżona i kształtowała się na poziomie 69 dla

TIGRIS i 67 dla s 201. Błędy dotyczyły 8291 próbek w przypadku TIGRIS oraz 6448 próbek w przypadku COBAS s 201 (1075 puli po 6 próbek). W przypadku systemu Chiron około połowę niepowodzeń spowodowały awarie systemu, podczas gdy większość pozostałych błędów wynikała z nieprawidłowych wzorców lub kontroli. W przeciwieństwie do systemu Chiron, w testach z użyciem s 201, 64% awarii spowodowały błędy systemu, szczególnie instrumentu COBAS AmpliPrep.

W trakcie badań doszło do jednej całkowitej awarii systemu TIGRIS, wywołanej uszkodzeniem rury odprowadzającej odpady. W przypadku s 201 doszło do całkowitej awarii jednego z instrumentów COBAS AmpliPrep wynikającego z przeciekania próbówki zawierającej bufor płuczący.

Badania przesiewowe dawców krwi

W ciągu 1 roku przetestowano 486 676 próbek krwi, z czego 244 313 przebadano indywidualnie na TIGRIS, a pozostałe 242 363 próbki były badane w pulach po 6 na s 201. Wynik badania ID-NAT w systemie TIGRIS wykazał dwie próbki NAT HIV-1-dodatnie. Wyniki podsumowano w tabeli 3. Próbki te były dodatnie również w badaniu w systemie s 201, po uprzednim ich rozcieńczeniu 1:6 w negatywnym osoczu. Trzy próbki krwi zakażonej

Tabela 3. Podsumowanie NAT-reaktywnych próbek

Table 3. Summary of NAT-reactive samples

System	Liczba badanych próbek	Liczba NAT-reaktywnych próbek		
		HIV-1	HCV	HBV
TIGRIS i Procleix Ultrio	244 313	2	0	71
Cobas s 201 i TaqScreen MPX	242 363	3	1	104
Razem	486 676	5	1	175
NAT — częstotliwość		1:97 000	1:490 000	1:2800

Tabela 4. Podsumowanie badania pięciu NAT HIV-1reaktywnych próbek

Table 4. Summary of testing of the five HIV-1 NAT-reactive samples

Dawca	Data	Procleix Ultrio S/CO (IDT)	Cobas TaqScreen MPX Ct	HIV Ag	Architect HIV Ag/Ab Combo	Miano CAP/CTM HIV (kopie/ml)
1*	29.01.2007	12,03 (+)	22,1 (+)	0,61 (-)	1,15 (+)	285 000
2*	25.02.2007	13,88 (+)	18,7 (+)	1,08 (+)	2,21 (+)	NA
3†	15.03.2007	14,81 (+)	19,0 (+)	3,53 (+)	10,08 (+)	> 10 ⁶
4†	2.07.2007	10,29 (+)	30,3 (+)	0,52 (-)	0,14 (-)	4570
5†	30.08.2007	16,29 (+)	25,8 (+)	0,70 (-)	1,61 (+)	43 200

*pierwsze badanie testem Procleix Ultrio, †pierwsze badanie testem Cobas TaqScreen MPX; NA (not available) — pojemnik z osoczem niedostępny

wirusem HIV-1 zostały wykryte przez s 201. Wszystkie te próbki dały wynik pozytywny w indywidualnych testach na aparacie TIGRIS. W trakcie badań w Tajlandzkim Czerwonym Krzyżu wszystkie próbki dały ujemne wyniki w testach z HIV PRISM O Plus i PRISM HIV Ag/Ab Combo. Jednakże późniejsze badania tych próbek na obecność antygenu wirusa HIV-1 oraz testy HIV Architekt Ag/Ab Combo w innym laboratorium wykazały, że 4 z 5 próbek były HIV Combo dodatnie, a dwie HIV Ag dodatnie (tab. 4). Jedna próbka w okienku serologicznym HCV została wykryta w puli 6 przez system COBAS s 201 oraz była reaktywna w badaniu aparatem TIGRIS. HBV wykryto w 104 próbkach badanych systemem COBAS s 201 w pulach składających się z 6 donacji i w 71 próbkach badanych pojedynczo na aparacie TIGRIS (tab. 3). Spośród tych próbek 142 dały zgodny wynik w testach na obu systemach, podczas gdy 27 próbek krwi reaktywnych w badaniach na s 201 dało negatywny wynik w badaniach na TIGRIS, a 6 próbek, które były reaktywne na TIGRIS, było niereaktywnych w badaniach na s 201. Zestawienie kolejnych badań serologicznych próbek krwi HBV NAT zaprezentowano w tabeli 7. Spośród 175 próbek reaktywnych w badaniach NAT w 82 (46,9%) wykryto jedynie obecność przeciwciał

anty-HBc, w 14 (8%) jedynie obecność przeciwciał anty-HBs, a w 31 (17,7%) wykryto zarówno anty-HBc, jak i anty-HBs. Natomiast pozostałe 48 próbek (27,4%) dawało wynik negatywny dla wszystkich badanych markerów serologicznych. Spośród 14 NAT-reaktywnych i anty-HBs-pozytywnych próbek krwi 8 próbek miało miano anty-HBs wyższe niż 1000 IU/l, podczas, gdy miano anty-HBc w pozostałych 6 próbkach zawierało się między 19 i 866 IU/l (dane nieprezentowane).

Częstość wykrywania wirusów za pomocą testów NAT była na poziomie 1 na 97 000 dawców dla HIV-1, 1 na 490 000 dla HCV i 1 na 2800 dla HBV. Po uwzględnieniu wyników badań serologicznych częstość występowania zakażenia wirusem HIV-1 obniżyła się do 1 na 490 000 (jeden dawca NAT-reaktywny/seronegatywny; tab. 4), a wirusem HBV do 1 na 10 000 (48 dawców NAT-reaktywny/seronegatywny; tab. 7).

Kontynuacja badań

Przypadek dawcy zakażonego wirusem HIV-1 w okresie okienka serologicznego był poddany kolejnym badaniom. Do serokonwersji doszło po 16 dniach od pierwszego badania krwi (tab. 5). W przy-

Tabela 5. Kolejne badania próbek pobranych od dawcy zakażonego wirusem HIV-1**Table 5.** Testing of follow-up samples from the HIV-1 window-period donor

Data	Test połączony HIV Ag/Ab				Status serologiczny	HIV Ag			Miano wirusa CAP/CTM HIV (kopie/ml)
	Architect HIV Combo	AxSYM Combo	PRISM Combo	Vironostika Combo		Murex HIV Ag MoAb	Vironostika HIV Ag	Western Blot HIV Blot 2.2	
02.07.2007	0,12 (-)	0,3 (-)	0,06 (-)	0,32 (-)	Negatywny	0,091 (-)	0,52 (-)	Negatywny	4570
11.07.2007	19,58 (+)	ND	3,43 (+)	1,56 (+)	Pozytywny	35,982 (+)	3,7 (+)	Negatywny	> 10 ⁶
18.07.2007	ND	ND	8,91 (+)	4,06 (+)	Pozytywny	6,818 (+)	2,12 (+)	Pośredni	>10 ⁶
06.10.2007	33,19 (+)	ND	8,82 (+)	15,15 (+)	Pozytywny	0,179 (-)	0,33 (-)	Pozytywny	ND

ND (not detected) — niewykryty

Tabela 6. Kolejne badania próbek pobranych od dawcy zakażonego wirusem HCV znajdującego się w okienku serologicznym**Table 6.** Follow-up testing of the HCV window-period donor

Data	Procleix Ultrio S/CO (IDT)	Cobas TaqScreen MPX Ct	PRISM anti-HCV
03.12.2007	7,658 (+)	21,6 (+)	0,31 (-)
30.01.2008	7,89 (+)	23,5 (+)	19,73 (+)

Tabela 7. Serologiczne badania próbek krwi, których wyniki były zgodne i niezgodne w NAT**Table 7.** Serologic study of the NAT concordant and discordant result samples

Wynik	Całkowita liczba próbek	Testy serologiczne			
		Anty-HBc tylko (%)	Anty-HBs tylko (%)*	Anty-HBc i anty-HBs (%)	Ujemny (%)
Wyniki zgodne	142	65 (45,2)	13 (9,1)	21 (14,8)	43 (30,3)
Wyniki niezgodne	0	0	0	0	0
Reaktywne w teście Cobas TaqScreen MPX	27	13 (48,2)	1 (3,7)	9 (33,3)	4 (14,8)
Reaktywne w teście Procleix Ultrio	6	4 (66,7)	0 (0,0)	1 (16,7)	1 (16,7)
Razem	175	82 (46,9)	14 (8,0)	31 (17,7)	48 (27,4)

*anty-HBs: większość wyników (8 próbek) miała miano > 1000 IU/l, podczas gdy pozostałe 6 próbek — 19–866 IU/l

padku okienka serologicznego dawcy zakażonego wirusem HCV również kontynuowano badania. Do serokonwersji u tej osoby doszło w ciągu około 2 miesięcy od momentu pierwotnego badania krwi (tab. 6).

Dalsze badania serologiczne próbek z HBV wykrytych w testach NAT (zarówno zgodnych, jak i niezgodnych) zostały przeprowadzone w celu sklasyfikowania tych próbek. Dodatkowo wykonano testy na obecność przeciwciał anty-HBc i anty-HBs (tab. 7). Spośród zgodnych próbek 43 były ujemne w obu testach serologicznych, natomiast w przypadku

próbek niezgodnych tylko 5 było ujemnych w obu testach.

Specyficzność kliniczna

Liczba próbek reagujących w pierwszym badaniu krwi oraz w powtórzeniach została podsumowana i zaprezentowana w tabeli 8. Badania techniką NAT wykazały dużą liczbę próbek reaktywnych (wskaźniki znacznie większe niż wynikające z częstości występowania). Z tego powodu, na potrzeby prezentowanych badań podjęto decyzję, że ostateczny wynik próbki zostanie określony na podstawie

Tabela 8. Częstość wyników wstępnie reaktywnych i reaktywnych w powtórzeniach**Table 8.** Initial-reactive rates and repeat-reactive rates

Wyniki	Procleix Ultrio	Cobas TaqScreen MPX
Liczba przebadanych próbek	244 313	242 363 próbki (40 407 puli)
Próbki wstępnie reaktywne (Ultrio) lub pulę (MPX)	1141 (0,47%)	604 pulę (1,49%)
Próbki reaktywne w teście różnicującym (Ultrio) lub próbki z rozdziału reaktywnej puli (MPX)	250 (0,10%)	380 próbek (z 351 reaktywnych puli) (0,87%)
Duplikaty, próbki reaktywne w powtórzeniach (z wykorzystaniem próbek osocza z pojemnika)	88	129
Częstość próbek fałszywie dodatnich	0,07%	0,10%
Specyficzność kliniczna (95% CI)	99,93% (99,92–99,94%)	99,90% (99,88–99,91%)

Tabela 9. Podsumowanie badania dawcy w okresie okienka serologicznego infekcji HBV**Table 9.** Summary of donor testing of HBV window case (from the specificity study)

Rodzaj próbki	Data	Procleix Ultrio (S/CO)	Cobas TaqScreen MPX (Ct)	ALT (IU/l)	PRISM HBsAg	Anty-HBs	Anty-HBc IgM	Anty-HBc IgG	anty-HBe
Pierwsza próbka	17.01.2008	0,13 (-)	37,2* (+)	ND	0,22 (-)	ND	ND	ND	ND
Kolejne próbki	11.02.2008	15,39 (+)	27,7† (+)	16	25,59 (+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	5.03.2008	17,67 (+)	11,9 (+)	23	279,44 (+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	28.03.2008	ND	ND	1768	453,06 (+)	(-)	(+)	(+)	(+)

ND (not detected) — niewykryty; *badany w pulach po 60; †badany w pojedynczych donacjach

dwukrotnego przebadania osocza krwi próbek reaktywnych. Dzięki takiemu postępowaniu uzyskano kliniczną swoistość na poziomie 99,93% dla Chiron Procleix Ultrio (95% CI; 99,92–99,94%) oraz 99,90% dla systemu Roche cobas TaqScreen MPX (95% CI, 99,88–99,91%). Poziom istotności dla podanych wartości nie został określony, ponieważ na każdym systemie badano inne próbki krwi.

Specyficzność i czułość systemów oceniono również na podstawie zbadania 5000 próbek (pojedyncze donacje na aparacie TIGRIS lub pulę po 6 próbek na s 201). W tym badaniu został wykryty jeden rozbieżny wynik. Próbka, pierwotnie niereaktywna w systemie TIGRIS, dała pozytywny wynik testu przy użyciu s 201. Dalsze badania próbki wykazały zakażenie HBV. Wyniki badań kolejnych próbek krwi od tego dawcy wykazały, że dawca był w okresie okienka serologicznego. W krótkim czasie doszło u niego do serokonwersji HBsAg oraz podwyższenia aktywności ALT. Dodatkowo u partnera dawcy zostało zdiagnozowane ostre zapalenie wątroby w ciągu około 3 tygodni po pierwszym badaniu krwi dawcy. W kolejnych badaniach krwi dawcy nie wykryto anty-HBs, anty-HBc i anty-HBe. Wyniki badania krwi tej osoby podsumowano i zaprezentowano w tabeli 9.

Czas pracy

System cobas s 201 pozwolił na badanie średnio 663 próbek na dobę w pulach po 6, a wyniki otrzymywano średnio po 8,31 godziny. System TIGRIS natomiast umożliwił opracowanie średnio 679 próbek na dobę, a zwolnienie wyników zajmowało średnio 10,31 godziny.

Dyskusja

Ocenie poddano dwa zautomatyzowane systemy NAT: system Chiron TIGRIS oraz Roche cobas s 201 z zastosowaniem testów typu multiplex Chiron Procleix Ultrio oraz Roche cobas TaqScreen MPX. Przy użyciu Międzynarodowych Standardów WHO wykazano, że oba systemy były w stanie osiągnąć czułość analityczną dla wszystkich trzech markerów wirusowych (HBV, HCV i HIV-1) zgodną z danymi technicznymi, a także, iż w żadnym z systemów nie doszło do zanieczyszczeń krzyżowych. Podobne wyniki zostały zaprezentowane w badaniach przeprowadzonych przez Służbę Krwi Australijskiego Czerwonego Krzyża (ARCBS, *Australian Red Cross Blood Service*) oraz Francuskie Stowarzyszenie Krwi (EFS, *l'Établissement Français du Sang*) [12, 17], stąd wniosek, że oba systemy mogą

być z powodzeniem stosowane w rutynowych badaniach dawców krwi.

W badaniach klinicznych krwi dawców na obecność wirusów HCV i HIV-1 nie wykryto różnicy w poziomie wykrywania, niezależnie od tego, czy badanie wykonano w pojedynczych donacjach przy użyciu testu Procleix Ultrio w systemie TIGRIS, czy w pulach po 6 i badano za pomocą testu cobas TaqScreen MPX w systemie cobas s 201. Jednak w przypadku wykrywania wirusa HBV badanie wykonane za pomocą systemu s 201 okazało się bardziej czułe niż badanie Procleix Ultrio (104 próbki wykryte przez cobas s 201 w porównaniu z 71 próbkami wykrytymi przez Procleix Ultrio, dodatkowo test Procleix Ultrio przeoczył jednego dawcę, który znajdował się w okresie okienka serologicznego HBV). Wyniki badań większości próbek, 81% ($142/175 \times 100$), były zgodne w obu systemach. Ponadto większość próbek wykazywała jeden lub więcej markerów serologiczny HBV (przeciwciała anti-HBc i anti-HBs). Istotne jest, że w 43 próbkach (30,3%) zgodnych oraz w 5 próbkach niezgodnych (15,2%) w testach NAT nie wykryto przeciwciał anti-HBc i anti-HBs, dlatego w celu jednoznacznego oznaczenia statusu dawców (przewlekłe nosicielstwo, utajone nosicielstwo HBV, okres okienka serologicznego w czasie pobrania krwi lub fałszywa reaktywność) podjęto dalsze badania krwi tych dawców oraz pozostałych niezgodnych. Nie można wykluczyć możliwości, że niektóre z niezgodnych próbek mogą być fałszywie reaktywne. Taka sytuacja jest mniej prawdopodobna dla próbek zgodnych, które dały reaktywny wynik w trakcie badań przy użyciu dwóch różnych technik NAT, ze starterami i sondami zaprojektowanymi dla różnych regionów. Kompleksowe badania próbek krwi pobranych od tych dawców są w toku. Różnica między dwoma systemami w poziomie wykrywania HBV została również odzwierciedlona w badaniu, w którym 5000 donacji określonych jako niereaktywne przez jeden system badano później w alternatywnym systemie. Jedna z próbek oznaczona jako niereaktywna w badaniu na aparacie TIGRIS okazała się HBV-reaktywna w badaniu przeprowadzonym na s 201. Dawca był w okienku serologicznym i w późniejszym czasie doszło u niego do serokonwersji. W tym przypadku próbkę osocza ponownie zbadano w systemie TIGRIS i uzyskano wynik reaktywny. Dodatkowo przy badaniach genotypu system TIGRIS przeoczył jedną próbkę krwi zakażoną HBV. Oba systemy zawiodły w zidentyfikowaniu jednej z 20 próbek krwi zakażonej HCV, a dalsze badania z wykorzystaniem testu ilościowego dały wynik „cel nie został wykryty”, dlatego możliwe jest,

że próbka została błędnie sklasyfikowana jako reaktywna. W około 65% HBV-reaktywnych próbek wykryto obecność przeciwciał anti-HBc. Jednakże wprowadzenie rutynowych badań krwi dawców na obecność przeciwciał anti-HBc jako sposobu weryfikacji potencjalnych dawców w większości krajów Azji Południowo-Wschodniej nie jest możliwe, gdyż doprowadziłoby do zbyt wysokich strat dawców ze względu na dużą częstość występowania przeciwciał anti-HBc u mieszkańców tych krajów.

Częstość wykrywania wirusów HIV-1, HCV i HBV metodami NAT wynosiła odpowiednio 1 na 97 000, 1 na 490 000 i 1 na 2800 dawców krwi. Jednak po uwzględnieniu wyłącznie przypadków dawców w okienku serologicznym, częstość wykrywania HIV-1 jest podobna do tej dla HCV, czyli 1 na 490 000 dawców. W przypadku infekcji wirusem HBV częstość występowania jest prawdopodobnie niższa, ponieważ niektóre z niezgodnych próbek prawdopodobnie dały fałszywie reaktywne wyniki. Jeśli uwzględnimy tylko próbki seronegatywne, częstość występowania HBV spada do 1 na 10 000 przebadanych próbek (48 próbek krwi, tab. 7). Częstość występowania HIV-1 jest wyższa niż w Europie Zachodniej i Ameryce Północnej, gdzie zakażenie tym wirusem obserwuje się u 1 na milion do 1 na 3 miliony [1–3]. Nie jest też zaskoczeniem, że częstość zakażeń wirusem HBV jest znacznie wyższa niż w Europie Zachodniej i Stanach Zjednoczonych, gdzie występuje on u około 1 na 600 000 [18, 19]. Obecnie wykonywane są dalsze badania serologiczne oraz oznaczenie miana wirusa w krwi tych dawców. Uważa się, że w większości przypadków wykrycie HBV spowodowane było utajoną infekcją HBV [20]. Tego rodzaju zakażenia są szczególnie rozpowszechnione w krajach o wysokim stopniu endemiczności HBV, takich jak Tajlandia [20]. Do tej pory wykonano bardzo niewiele badań dotyczących przenoszenia zakażenia HBV drogą transfuzji od dawców z utajoną infekcją. W prezentowanych badaniach wykryto 14 NAT-reaktywnych, które były dodatnie tylko w badaniach na obecność anti-HBs (tab. 7). Ponieważ 13 z tych 14 próbek pochodziło z grupy zgodnej w obu badaniach NAT (tab. 7), jest mało prawdopodobne, aby dały one w tych testach wyniki fałszywie reaktywne. Prawdopodobnie te 14 próbek krwi pochodzi od osób po szczepieniu przeciwko HBV. Masowe szczepienia niemowląt w Tajlandii przeciwko HBV wykonywane są od 1992 roku, stąd większość osób szczepionych nie była uprawniona do oddawania krwi w okresie obejmującym prezentowane w tej pracy badania (2007–2008). Jednak w tym czasie istniała możliwość dobrowolnego szczepienia dorosłych przeciwko HBV

i nie można wykluczyć, że w niektórych przypadkach dawcy byli szczepieni przed oddaniem krwi. Dalsze badania pierwszych i kolejno pobranych próbek krwi, jak również przeprowadzenie procedury *look-back*, mogą dostarczyć odpowiedzi na pytanie, czy prezentowane w tej pracy badania dotyczą przypadków po szczepieniu. W badaniach klinicznych przy użyciu testu Roche COBAS AmpliScreen HBV [18] kilka z próbek HBV NAT-pozytywnych zachowywało się w podobny sposób i okazało się, że niektórzy z opisanych w tym badaniu dawców poinformowali o uprzednim szczepieniu. Dodatkowo jeden przypadek dawcy w okresie okienka serologicznego niezidentyfikowany w trakcie badań z użyciem Procleix Ultrio został wykryty w badaniu cobas TaqScreen.

Specyficzność obu testów była na poziomie do zaakceptowania w rutynowych badaniach w krwiodawstwie, chociaż okazała się niższa niż w badaniach EFS [21]. Aby wykluczyć prawdopodobieństwo zanieczyszczenia krzyżowego, wszystkie próbki reaktywne były badane ponownie, w duplikacie z wykorzystaniem próbek pobranych z pojemnika z osoczem (bez względu na ostateczny wynik pojemniki z osoczem były niszczone). Na podstawie wyników przeprowadzonych badań nie stwierdzono zanieczyszczeń krzyżowych. Analiza wyników badań uzyskiwanych w okresach miesięcznych (dane nieprezentowane) wykazywała stały spadek fałszywie reaktywnych wyników otrzymywanych obiema metodami, prawdopodobnie ze względu na rosnącą umiejętność obsługi i pewność siebie osób prowadzących badania NAT. Analiza czasu pracy wykazała, że wynik otrzymywano szybciej w trakcie badania próbek krwi w pulach po 6 w porównaniu z badaniem pojedynczych donacji. Wyniki te są zgodne z uzyskanymi przez EFS [17].

Mimo że istnieją problemy związane ze sprzętem i w mniejszym stopniu także z oprogramowaniem obu systemów, zmniejszają się one miarę zdobywania doświadczenia przez operatorów systemów [12, 17, 21, 22].

Niniejsza praca jest pierwszym przedstawieniem rutynowego badania krwi przy użyciu dwóch systemów w ciągu roku. W tym czasie zbadano prawie pół miliona próbek, dzięki czemu dokonano porównania tych dwóch systemów, jak również oszacowano częstość wykrywania zakażeń za pomocą technik NAT w Tajlandii. Okazało się, że zastosowanie techniki NAT odgrywa kluczową rolę w zapewnieniu bezpieczeństwa krwi do transfuzji w Tajlandii. Oprócz pojedynczych przypadków wykrycia infekcji wirusami HIV-1 i HCV, większość zakażeń wykrytych dzięki badaniom NAT były to przypadki utajonych infekcji wirusem HBV w po-

pulacji dawców krwi. Mimo prowadzenia programu szczepień, który trwa od kilku lat, częstość wykrywania przypadków HBV jest wysoka w porównaniu z innymi krajami w Azji Południowo-Wschodniej [11, 20–24]. Istnieją dwie główne przyczyny, dlatego ta częstość jest tak wysoka. Po pierwsze, może być przeszacowana, ponieważ nie wszystkie badania zostały zakończone, a niektóre z wyników, w szczególności te, które dały wyniki ujemne serologicznie, niezgodne w testach NAT, mogą okazać się fałszywie reaktywne. Po drugie, możliwe jest również, że zastosowanie bardzo czułych, automatycznych metod NAT pozwoli na wykrycie większej liczby utajonych infekcji HBV przebiegających z niskim poziomem wirēmii, w porównaniu z używanymi współcześnie systemami NAT. Podobnie, jak w badaniach przeprowadzonych w Australii i we Francji [12, 21], oba systemy oraz algorytmy postępowania (badanie pojedynczych donacji przy użyciu Chiron Procleix Ultrio oraz badanie w pulach po 6 próbek metodą Roche TaqScreen) nadają się do rutynowych badań dawców krwi w Tajlandii.

Podziękowania

Narodowe Centrum Krwi Tajlandzkiego Stowarzyszenia Czerwonego Krzyża dziękuje Narodowemu Instytutowi Zdrowia Ministerstwa Zdrowia Publicznego za przygotowanie standardów.

Zakładowi Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Szpitala w Siriraj oraz Zakładowi Patologii Wydziału Lekarskiego Szpitala w Ramathibodi za testy serologiczne na obecność wirusa HBV, a także firmom Chiron Corporation i Roche Molecular Systems za pomoc techniczną w czasie badań.

Konflikt interesów

Autorzy deklarują, że nie istnieje konflikt interesów.

tłum. Aleksandra Adamowska

Piśmiennictwo

1. Stramer S.L., Glynn S.A., Kleinman S.H. i wsp. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 760–768.
2. Coste J., Reesink H.W., Engelfriet C.P. i wsp. Implementation of donor screening for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology: update to 2003. *Vox Sang.* 2005; 88: 289–303.
3. Roth W.K., Weber M., Buhr S. i wsp. Yield of HCV and HIV-1 NAT after screening of 3.6 million blood donations in central Europe. *Transfusion* 2002; 42: 862–868.

4. CDC. West Nile virus activity — United States, October 10–16, 2002, and update on West Nile virus infections in recipients of blood transfusion. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2002; 51: 929–931.
5. Kleinman S., Glynn S.A., Busch M. i wsp. The 2003 West Nile virus United States epidemic: the America's Blood Centers experience. *Transfusion* 2005; 45: 469–479.
6. Stramer A.L., Fang C.T., Foster G.A., Brodsky J., Dodd R.Y. West Nile virus among blood donors in the United States, 2003 and 2004. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 451–459.
7. Ishida T., Takao S., Settheetham-Ishida W., Tiwawech D. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in rural ethnic populations of Northern Thailand. *J. Clin. Virol.* 2002; 24: 31–35.
8. Luksamijarulkul P., Thammata N., Tiloklurs M. Seroprevalence of hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus among blood donors. Phitsanulok Regional Blood Center, Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health* 2002; 33: 272–279.
9. Wiwanitkit V. Anti HCV seroprevalence among the voluntary blood donors in Thailand. *Hematology* 2005; 10: 431–433.
10. Liu C.J., Chen D.S., Chen P.J. Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. *J. Clin. Virol.* 2006; 36: S33–S44.
11. Commanor L., Holland P. Hepatitis B virus blood screening; unfinished agendas. *Vox Sang.* 2006; 91: 1–12.
12. Margaritis A.R., Brown S.M., Seed C.R., Kiely P., D'Agostino B., Keller A.J. Comparison of two automated nucleic acid testing systems for simultaneous detection of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA. *Transfusion* 2007; 47: 1783–1793.
13. Wong I., Lam S., Teo D. Overview of nucleic acid testing (NAT) on blood donations in Singapore. *Vox Sang.* 2005; 89: 19.
14. Yugi H.S., Satake M., Tadodoro K. Implementation of donor screening for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology in Japan. *Vox Sang.* 2005; 89: 265.
15. Yoshikawa A., Gotanda Y., Itabashi M., Minegishi K., Nishioka K. The Japanese Red Cross NAT Screening Research Group. Hepatitis B NAT virus-positive donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang.* 2005; 88: 77–86.
16. External review of the health sector response to HIV/AIDS in Thailand. A Joint Publication of the Ministry of Health, Thailand, and the World Health Organization Regional Office for South-East Asia 2005: 1–68.
17. Assal A., Barlet V., Deschaseaux M. i wsp. Comparison of the analytical and operational performance of two automated NAT blood screening systems: procleix TIGRIS and cobas s 201. *Transfusion* 2009; 49: 289–300.
18. Linauts S., Saldanha J., Strong D.M. PRISM hepatitis B surface antigen detection of hepatitis B virus minipool nucleic acid yield samples. *Transfusion* 2008; 48: 1376–1382.
19. Roth K.W., Weber M., Petersen D. i wsp. NAT for HBV and anti-HBc testing increase blood safety. *Transfusion* 2002; 42: 869–875.
20. Allain J.P. Occult hepatitis B infection: implications in transfusion. *Vox Sang.* 2004; 86: 83–91.
21. Li L., Chen P.J., Chen M.H., Chak K.F., Lin K.S., Lin Tsai S.J. A pilot study for screening blood donors in Taiwan by nucleic acid amplification technology: detecting occult hepatitis B virus infection and closing the serologic window for hepatitis C virus. *Transfusion* 2008; 48: 1198–206.
22. Jarvis L., Becker J., Tender A. i wsp. Evaluation of the Roche cobas s 201 system and cobas TaqScreen multiplex test for blood screening: a European multicenter study. *Transfusion* 2008; 48: 1853–1861.
23. Yoshikawa A., Gotanda Y., Itabashi M., Minegishi K., Kanenitsu K., Nishioka K.; the Japanese Red Cross Blood Screening Group. Hepatitis NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang.* 2005; 88: 77–86.
24. Matsumoto C., Tadokoro K., Fujimura K., Hirakawa S., Mitsu-naga S., Juji T. Analysis of HBV infection after blood transfusion in Japan through investigation of a comprehensive donor specimen repository. *Transfusion* 2001; 41: 874–884.